

T Hausman.

1966

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Freiburg i.Br.

Direktor: Professor Dr. H. Krauß

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE TOXITÄT
VERBRANNTER HAUT MIT BERÜCKSICHTIGUNG BAKTERIELLER FAKTOREN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

einer

H o h e n M e d i z i n i s c h e n F a k u l t ä t

der

Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i.Br.

vorgelegt

von

Peter Haußmann

geboren in

Stuttgart-Bad Cannstatt

1966



Dekan: Prof.Dr.K.W. Kalkoff

Referent: Prof.Dr. L. Koslowski

Allgemeines:

Trotz der Fortschritte in der Therapie der Verbrennungskrankheit ist die Sterblichkeit nach schweren ausgedehnten Verbrennungen und Verbrühungen nahezu unverändert (2). Die Gründe dafür sind zum Teil noch nicht geklärt. Sicher spielen die verminderte Infektionsresistenz und die massive Invasion von Erregern von der verbrannten Haut die größte Rolle. Es wird aber auch die Wirkung von toxischen Substanzen aus der verbrannten Haut diskutiert. (1,14)

Dabei handelt es sich wohl um Metaboliten des beschleunigten und gestörten Eiweißstoffwechsels. Durch die Hitzeeinwirkung werden die Proteine der Haut denaturiert und dadurch von proteolytischen Fermenten leichter angegriffen. Diese können durch den Gewebszerfall und durch die lokale Acidose infolge Sauerstoffmangels aktiviert werden. Dieser wiederum wird durch die beschleunigten biochemischen Reaktionen und durch die Thrombosierung der Hautgefäße bedingt. Nach Kompensation des Schocks werden die angehäuften Abbauprodukte mit dem Verbrennungsödem resorbiert und gelangen in den Kreislauf. Durch den vermehrten Anfall dieser Stoffe kann es zu einer Überlastung der Entgiftungs- und Ausscheidungsfunktionen des retikulo-endothelialen Systems und der parenchymatösen Organe kommen, die meist schon durch die Oligämie, Hypoxämie und Hypoproteinämie vorgeschädigt sind. (14)

Daraus ließe sich auch die oben erwähnte reduzierte Infek-

tionsresistenz erklären.

Ungeklärt ist, welche Rolle Bakterien und Bakterientoxine bei diesen Vorgängen spielen. Bei klinischen und experimentellen Untersuchungen von Hautläsionen nach ausgedehnten Verbrennungen wurden immer Bakterien gefunden.

In der nachstehenden Arbeit wurde versucht, im Tierexperiment die Wirkung giftiger Substanzen aus verbrannter Haut und den Einfluß von Bakterien auf die Toxizität von verbrannter Haut zu untersuchen.

Dazu ist es notwendig, das Verbrennungstrauma und seine unmittelbaren Folgen wie Flüssigkeits-, Mineral- und Eiweißverlust und die bakterielle Infektion auszuschalten. Dies kann dadurch erreicht werden, daß die Versuchstiere entsprechend behandelt werden, oder daß die verbrannte Haut entnommen und anderen Tieren parenteral verabreicht wird. Unter der Voraussetzung, daß in einem Homogenat aus verbrannter Haut die vermuteten giftigen Stoffe enthalten sind, müßten gesunde Tiere, nach parenteraler Injektion, die Zeichen einer Intoxikation wie nach einer ausgedehnten Verbrennung zeigen. Gelingt es, das Homogenat keimfrei herzustellen, so läßt sich damit die Toxizität, ohne den Einfluß von Bakterien, demonstrieren. Da es nicht geklärt ist, in welchem Zeitraum nach der Verbrennung diese sog. Ver-

brennungstoxine entstehen, ist es notwendig, in verschiedenen Zeitabständen nach der Verbrennung die verbrannte Haut zu entnehmen, daraus Homogenate herzustellen und an gesunde Tiere parenteral zu verabreichen. Bei hinreichend hoher " Toxin " -konzentration im Homogenat kommt das Versuchstier ad exitum. Wenn andere Ursachen ausgeschlossen werden können, läßt sich auf diese Weise am einfachsten die Existenz und die relative Konzentration der toxisch wirkenden Substanzen nachweisen.

Bei einer Darstellung der Letalität der Versuchstiere in Abhängigkeit von der Zeit nach der Verbrennung müßte sich eine Kurve ergeben, die erkennen läßt, wann die Produktion der sog. Verbrennungstoxine in der Haut in Gang kommt, wann sie ihr Maximum erreicht und wieder abklingt.

Daraus könnten sich viele neue Wege sowohl für weitere experimentelle Untersuchungen als auch für therapeutische Maßnahmen im klinischen Bereich ergeben.

Material und Methoden

Versuchstiere: Die Verbrennungen wurden an weiblichen, weißen Ratten gesetzt, da diese technisch einfach und homo-

gen zu behandeln sind, und die Ausbeute an verbrannter Haut und dem daraus hergestellten Extrakt oder Homogenat relativ groß ist. Als Empfängertiere, denen der Extrakt parenteral verabreicht wurde, dienten männliche, weiße Mäuse. Dadurch stand eine große Zahl von Versuchstieren zur Verfügung, die mit dem gleichen Extrakt behandelt werden konnten. Insgesamt wurden 38 Ratten und 893 Mäuse verwendet.

Methoden: Es wurden folgende Experimente und Untersuchungen durchgeführt:

I Hauptversuch mit Extrakten aus verbrannter Haut

II Nebenversuche

- 1) Versuche zur Kontrolle der Volumenbelastung durch die Injektion
- 2) Versuche mit Extrakten aus nicht verbrannter Haut
- 3) Versuche mit kontaminierten Extrakten
- 4) Versuche mit Extrakten aus verbrannter Haut keimfreier Ratten
- 5) Versuche mit Bakteriensuspensionen

III Zusätzliche Untersuchungen

- 1) histologische Untersuchung der verbrannten Haut
- 2) bakteriologische Untersuchung der Extrakte
- 3) Sektion der Versuchstiere
- 4) Papierelektrophorese der Extrakte und
Sera der Ratten

Hauptversuch

Bei der Versuchsanordnung wurde großer Wert auf Einfachheit gelegt, um Reproduzierbarkeit und optimales steriles Arbeiten zu ermöglichen.

Der Ablauf des Experiments gliedert sich in einen nicht-sterilen und in einen sterilen Teil.

a) Nicht-steriler Teil. Ein bis drei 250 - 280 g schweren Ratten wird in Äthernarkose mit einer elektrischen Schermaschine das Haarkleid des Rückens entfernt (Abb.1) .

Zur Einleitung der Narkose werden die Tiere in ein mit Ätherdampf gefülltes, dicht schließendes Glasgefäß gebracht und sobald sie Seitenlage eingenommen haben, wieder daraus entfernt. Die Unterhaltung der Narkose geschieht mittels einer Tropfmaske, die Nasen- und Mundöffnung des Versuchstieres umschließt. (Abb.1,2) Nach der Entfernung der Haare wird das Versuchstier kräftig abgespült und auf eine Vorrichtung gebracht, die es erlaubt, weiter an dem Tier

zu arbeiten, ohne es mit den Händen berühren zu müssen.

(Abb. 2)

b) Steriler Teil. Während des sterilen Arbeitens wird ein Mundschutz getragen. Alle sterilisierbaren Instrumente und Gefäße werden bei 120° C eine Stunde in Wasserdampf unter 1 atü sterilisiert.

1) Desinfektion: Die geschorene Rückenhaut wird reichlich mit sterilem destilliertem Wasser gespült, mit einer milden Seifenlösung (Lux) mit steriler Kompresse abgerieben, abermals klargespült und anschließend mit 96% igem und dann 70% igem Äthylalkohol abgerieben und zum Schluß nochmals mit sterilem destilliertem Wasser abgespült.

2) Verbrennung: Zur Verbrennung wird eine von heißem Wasser durchströmte, 300 g schwere Metallhülse verwendet, die durch eine 80 cm lange Schlauchleitung von einem mit kochendem Wasser gefülltem Topf gespeist wird. (Abb.2,7)

Durch eine andere Schlauchleitung kann das Wasser abfließen. Die Temperatur des zufließenden Wassers beträgt 99° C, die des abfließenden 96° C. An der scheibenförmigen Bodenplatte der Metallhülse (Durchmesser 2,2 cm) wird eine Temperatur von 89° C gemessen. Nach einer Vorlaufzeit von 1 - 2 Minuten, während der die Apparatur die erforderliche Temperatur erreicht, wird die Metallhülse mit ihrer (mit

Septikal desinfizierten) Bodenplatte mit leichtem Druck auf die Haut ausgesetzt. Diese wurde zuvor mit wenig 70% igem Alkohol befeuchtet, um einen guten Wärmeübergang zu gewährleisten. (Steriles Wasser ist zu diesem Zweck ungeeignet, da es die Haut nicht genügend benetzt) . Der Verbrennungsstempel wird 6 - 9 mal, je nach Größe des Versuchstieres, 30 Sekunden lang auf die Haut aufgedrückt. Dadurch entstehen etwa markstückgroße, grünlich-graue, derbe Areale. (Abb.3) Nach der Verbrennungsprozedur werden die Tiere separat in desinfizierte, mit einem Gitterboden versehene Glasgefäße eingebracht und verbleiben dort bis zur Exzision der verbrannten Hautstellen. (Abb.4) Diese erfolgt in den verschiedenen Versuchen an jeweils verschiedenen Ratten nach 1/2, 1, 2, 4, 8, 14, 24, 48, 96 und 168 Stunden. Während dieser Zeit erhalten die Tiere Futter (Altrumin) und Wasser nach Bedarf.

3) Exzision und Extrakterstellung: Zur Exzision wird die oben beschriebene Narkosetechnik angewendet. Vor der Exzision wird die Rückenhaut abermals mit 70% igem Alkohol desinfiziert und mit sterilem Wasser gespült. Mit sterilen Instrumenten werden die geschädigten Hautbezirke in ganzer Dicke mitsamt dem anhaftenden Hautmuskel bis auf die Faszie der Skelettmuskulatur exzidiert. Ein kleines Hautstückchen wird aus der Übergangszone von unversehrter und verbrannter

Haut entnommen und für histologische Untersuchungen in Formalin fixiert. Danach werden die Tiere mit Ätherdampf getötet, aus der vena cava inferior Blut und in einigen Fällen Leber und Milz entnommen und für papierelektrophoretische Untersuchungen verwendet.

Eine einzelne Verbrennungsmarke wiegt durchschnittlich 2 g. Die Hautstücke werden mit steriler Schere und Pinzette in der Nähe einer Bunsenflamme zerkleinert, jeweils mit 3 Gewichtsteilen steriler physiologischer Kochsalzlösung versetzt, mit einem durch Äther-Alkoholgemisch desinfizierten Stabhomogenisator (Modell Janke und Kunkel, Typ 18/2) aufgeschwemmt und in einem sterilen Philadelphia-Homogenisator homogenisiert. (Abb.5) Der Überstand ist eine weißlich-kakaofarbene Flüssigkeit, die nur wenig gröbere Bestandteile enthält. Sie wird in sterile Erlenmeyerkölbchen abgefüllt und dient als Injektionsmaterial für Mäuse. Es wird im folgenden als Extrakt bezeichnet. Proben von Hautextrakt werden bakteriologisch und elektrophoretisch untersucht. Einige Versuche wurden doppelt durchgeführt, so daß insgesamt 13 verschiedene Extrakte aus verbrannter Haut Verwendung fanden.

Verabreichung des Extraktes an Mäuse: In einem Versuch werden 20 männliche, 20 - 30 g schwere, weiße Mäuse verwendet. Ihnen wird der Extrakt in zwei Gruppen in einer Dosis von 0,04 ml pro g Körpergewicht bzw. 0,08 ml pro g Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Eine 25 g schwere Maus erhält demnach in Gruppe I 1,0 ml bzw. in Gruppe II 2,0 ml Extrakt. Vor jeder Injektion wird die künftige Stichstelle nach Auszupfen der Haare mit 70 % igem Alkohol desinfiziert. (Abb.6) Zur Injektion werden Rekordspritzen mit Kanülen der Größe 1 verwendet, die nach jeder Injektion durch sterile ersetzt werden. Die Spritzen werden durch die Kanülen aufgezogen, um gröbere Extraktpartikel fernzuhalten. Die Tiere werden in Plexiglaskäfigen (Macrolon) gehalten und erhalten Standardfutter (Altrumin) und Wasser nach Bedarf. Sie werden 10 Tage lang beobachtet.

Nebenversuche

Volumenbelastung: Zur Kontrolle eines etwaigen Einflusses der Volumenbelastung durch die injizierten Extraktmengen wird einer Serie von 20 Mäusen eine ent-

sprechende Menge steriler physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal injiziert.

Nicht verbrannte Haut: Um die Wirkung eines Extraktes aus nicht verbrannter Rattenhaut zu untersuchen, wird aus der in gleicher Weise desinfizierten Rückenhaut nicht verbrannter Ratten mit den beschriebenen Methoden ein Extrakt hergestellt und Mäusen injiziert. Auch hier werden bakteriologische und papierelektrophoretische Untersuchungen durchgeführt.

Die Versuche mit keimfreien und kontaminierten Extrakten sowie mit Bakteriensuspensionen werden an späterer Stelle beschrieben.

Ergebnisse

Injektionstechnik: Durch die Injektion wurde nur in einem Falle ein blutreiches inneres Organ verletzt, so daß das Tier innerhalb von 20 Minuten infolge einer Blutung in die Peritonealhöhle verstarb. In allen anderen Todesfällen konnte durch die Sektion keine Verletzung, abgesehen von der Stichstelle in den Bauchdecken nachgewiesen werden.

Volumenbelastung: Nach der Injektion von steriler physiologischer Kochsalzlösung verstarben von 20 Tieren in 10 Tagen 2 und zwar nach 3 Tagen eines aus Gruppe I und nach 8 Tagen eines aus Gruppe II. Dies entspricht der Spontanmortalität von unbehandelten Tieren.

Histologie: Die mikroskopischen Präparate wurden sowohl mit der Hämatoxylin-Eosinfärbung als auch modifiziert nach Verhoeff (7) gefärbt.

Aus den histologischen Befunden läßt sich eine Verbrennung dritten Grades diagnostizieren. (12,13) Das histologische Bild ändert sich von einer halben Stunde bis 48 Stunden nach der Verbrennung nur wenig. Die Grenze zwischen unversehrter und verbrannter Haut ist deutlich zu erkennen. Die verbrannten Bezirke zeichnen sich durch eine intensivere eosinophile Färbung aus. Die Epidermis verliert ihr welliges Relief. Sie wird plan, verschmälert und verdichtet, die Kerne sind schlecht erkennbar und zeigen Pyknose. Das lockere Fasergeflecht des Coriums verquillt zu einer kompakten, nahezu homogenen Masse. Nur in den tiefsten Lagen über der Muskulatur sind noch schmale Zwischenräume zu erkennen. Die Haarbälge liegen ganz in der hyalin-verquollenen Fasermasse des Coriums eingeschlossen. Sie sind geschrumpft, verschmälert und verdichtet, ihre Kerne sind abgeplattet und pyknotisch. Die Mus -

kelfasern des Hautmuskels werden auseinander gedrängt. Eine Querstreifung ist nur in wenigen Fällen zu erkennen. Meist zerfallen die Myofibrillen im Sarkoplasma zu homogenen Granula.

Nach 96 Stunden proliferiert die Epidermis an den Wundrändern. Cytoplasmareiche Zellen schieben sich unter die devitalisierte Epidermis. Gleichzeitig bildet sich eine diffuse leukocytaire Infiltration des Muskel- und Fettgewebes aus. Die verbrannten Hautbezirke beginnen sich zu demarkieren.

Nach 168 Stunden hat sich eine dichte Ansammlung von Leukocyten an der Grenze zur verbrannten Haut ausgebildet. Die proliferierende Epidermis wächst in die Tiefe und beginnt, die verbrannte Haut mitsamt dem Leukocytenwall abzuheben.

Versuche mit Extrakten aus verbrannter Haut:

In den folgenden Tabellen und Diagrammen (Abb.8-20) wird die Summe der Todesfälle in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion dargestellt. In der oberen waagrechten Spalte ist die Zeit nach der Injektion aufgetragen, in der ersten senkrechten Spalte die Gruppenbezeichnung und dahinter in Klammern die Anzahl der verwendeten Versuchstiere. In den

folgenden senkrechten Spalten erscheint die Zahl der Todesfälle zu den angegebenen Zeiten und aus der letzten Spalte ist die Summe der Todesfälle zu entnehmen, die sich während eines Beobachtungszeitraumes von 10 Tagen ereigneten. Über jedem Diagramm ist die Zeit in Stunden (h) nach der Verbrennung (post combustionem) eingetragen, nach der die Extrakte hergestellt wurden. Darunter erscheint das Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung. Die quantitativen Angaben: wenig (+), mäßig (++), viel (+++) wurden aus der Besiedlungsdichte einer Blutagarplatte abgeleitet, auf die jedesmal eine Öse voll Extrakt ausgestrichen wurde. Die unterbrochene Linie gibt die Absterberate der Gruppe I, die durchgezogene Linie die der Gruppe II wieder.

Bei allen Versuchen waren bis auf eine Ausnahme die Extrakte mit Bakterien verunreinigt, obwohl versucht wurde, möglichst keimfrei zu arbeiten. Die Tatsache, daß fast immer nur *bacillus cereus* als Verunreinigung gefunden wurde, deutet darauf hin, daß die Desinfektionsmethoden wohl dazu geeignet waren, alle anderen Keime der Haut zu eliminieren, nicht aber *bacillus cereus*. Dieser gilt im allgemeinen als für Mäuse apathogen, doch zeigen Untersuchungen von anderen Autoren (5) und nachfolgende,

daß dies unter besonderen Umständen nicht der Fall ist. Das Auftreten von bacillus cereus, Corynebakterien, Streptokokken und staphylococcus aureus in den Extrakten, die nach 96 Stunden bzw. 168 Stunden nach der Verbrennung gewonnen wurden, läßt sich dadurch erklären, daß nach dieser Zeit die verbrannte, nekrotische Haut für Bakterien durchlässig ist und in ganzer Tiefe einen guten Nährboden abgibt. Deshalb können die Keime in die tieferen Hautschichten eindringen und nicht durch die oberflächlichen Desinfektionsmaßnahmen beseitigt werden.

In den Abb. 21, 22, 23 ist die Letalität der Versuchstiere aus allen Versuchen mit Extrakten aus verbrannter Haut nach einem Beobachtungszeitraum von 3, 6 und 10 Tagen zusammengestellt. Auffällig ist, daß sich 3 Tage nach der Injektion von 1/2 - Stunden -, 8-Stunden und 48 - Stunden-Extrakt kein Todesfall ereignete, während nach der Injektion von 2-Stunden-, 14-Stunden-, 96-Stunden- und 168-Stunden-Extrakt schon der größte Teil der Versuchstiere ad exitum gekommen war. Dieser Befund läßt sich schwerlich mit der eingangs erwähnten Auffassung vereinbaren, daß der Verlauf der Letalitätskurve ein Maß für die Produktion von giftigen Substanzen in der verbrannten Haut sei. Die Vermutung liegt nahe, daß für eine derart unregelmäßige Absterberate wohl mehrere Fak-

toren verantwortlich zu machen sind. In erster Linie ist dabei an die bakterielle Verunreinigung der Extrakte zu denken.

Versuche mit Extrakten aus nicht verbrannter Haut:

In den Abb. 24 - 30 ist die Mortalität nach der Injektion von Extrakten aus nicht verbrannter Rattenhaut in der gleichen Weise wie oben dargestellt.

Es wurden sieben voneinander unabhängige Versuche angestellt.

Auch die Extrakte aus nicht verbrannter Haut waren bis auf eine Ausnahme mit bacillus cereus in wechselndem Ausmaß verunreinigt. Nach ihrer Injektion wurde eine kaum geringere Mortalität beobachtet, als nach der Injektion von Extrakten von verbrannter Haut. Auch die Sektionsbefunde waren in beiden Fällen gleichartig. Bei den Tieren, die in den ersten 24 Stunden nach der Injektion verstarben, wurde in den meisten Fällen ein leicht hämorrhagisches Oedem der Haut und reichlich klares, blutig tingiertes Exsudat in der Peritoneal- und Pleurahöhle gefunden. Nach dem 4.-6. Tag beherrschten fibrinöse und eitrige Peritonitis, sowie Verklebungen und Verwachsungen der Extraktrückstände mit Darmschlingen, Leber, Magen und

Milz das Bild. Die Milz war meist stark vergrößert.

Auffallend ist der ähnliche Verlauf der Mortalitätskurven sowohl bei den Versuchen mit Extrakten aus verbrannter als auch nicht verbrannter Haut. Als Gemeinsamkeit ist festzustellen, daß die Absterberate bei den hohen Extrakt Dosen innerhalb der ersten 24 Stunden am größten ist, während sie bei der niedrigen Dosierung erst nach dem 4.-6.Tag ansteigt. Diese Beobachtung erklärt sich einmal aus den mit dem Extrakt inokulierten Keim mengen selbst, zum anderen spielt aber offenbar auch eine Aktivierung latenter Infektionen bei den Mäusen durch die Injektionsbelastung eine Rolle. Hierfür spricht der Anstieg der Mortalität nach dem 4.-6. Tag nach der Injektion von zwei zufällig steril gewonnenen Extrakten aus sowohl verbrannter (Abb.18) als auch nicht verbrannter Haut (Abb.29).

In früheren Versuchen wurde festgestellt, daß die Keimzahl und auch die Mortalität von Extrakten aus verbrannter Haut wesentlich höher lag, als bei Extrakten aus nicht verbrannter Haut. Weiterhin zeigte sich, daß die spät nach der Verbrennung hergestellten Extrakte stärker mit Bakterien verunreinigt waren und eine höhere Sterblichkeit bewirkten als die früh nach der Verbrennung hergestellten Extrakte. Für den Zusammenhang

zwischen hoher Letalität und bakterieller Verunreinigung der Extrakte sprechen die Ergebnisse der Versuche mit 96- und 168-Stunden-Extrakt. Bei der Sektion von Mäusen, die nach Injektion von 168-Stunden-Extrakt starben, wurden in Leber, Lunge, Herz und Nieren massenhaft die gleichen Keime gefunden, die der Extrakt enthielt, darüberhinaus Pasteurellen. Letzteres spricht für die bereits erwähnte Aktivierung latenter Infektionen.

Beim Vergleich der Kurven lassen sich drei Verlaufsformen unterscheiden. Die erste ist dadurch ausgezeichnet, daß die Absterberaten in beiden Gruppen innerhalb der ersten 48 Stunden steil ansteigen und einen ähnlich hohen Wert erreichen. (Abb.10, 13, 17, 19, 20) Bei der zweiten Form fällt auf, daß die Absterberate in Gruppe II wie oben innerhalb der ersten 48 Stunden am größten ist und viel höhere Werte erreicht als in Gruppe I, wo sie erst nach dem 4.-6. Tag ansteigt. (Abb.11, 12, 15, 16, 24, 25, 26, 27) Die dritte Form schließlich ist dadurch charakterisiert, daß in beiden Gruppen die Mortalität erst nach dem 4.-6.Tag auftritt. (Abb.8, 14, 28, 29, 30) Freilich gibt es, wie überall im biologischen Bereich, Übergangsformen. (Abb.9) Schematisch ist dies in den Abbildungen 31, 32 und 33 dargestellt.

Zur ersten Form gehören die Ergebnisse von Versuchen mit Extrakten aus verbrannter Haut, während zur zweiten und dritten Form sowohl die Ergebnisse von Versuchen mit verbrannter als auch nicht verbrannter Haut zählen. Berücksichtigt man die bakteriellen Verunreinigungen, so zeigt sich, daß beim Typ I große, beim Typ III nur geringe oder gar keine bakteriellen Verunreinigungen gefunden wurden.

Aus dem bisher Gesagten läßt sich folgendes ableiten: Im ersten Fall ist wohl die Keimmenge in niedriger und hoher Dosierung bei der Injektion so groß, daß die Mortalität rasch ansteigt und zwar unabhängig von der Dosierung. Im zweiten Fall ist die Keimmenge in den hohen Extrakt Dosen noch groß genug, um rasche Mortalität zu bewirken, während die Keimmengen in den niedrigen Dosierungen nur zu einer Schwächung der Versuchstiere führen, wobei einige davon im Verlauf weniger Tage einer latenten oder intercurrenten Infektion zum Opfer fallen. Im dritten Fall sind die Keimmengen in beiden Dosierungen so gering, daß sie nur die eben beschriebenen Wirkungen entfalten können. Hinzu kommt noch, daß der Gesundheitszustand der Versuchstiere sehr unterschiedlich war, worauf die oft hohe Spontanmortalität und die sehr wechselhaften Serumelektropherogramme hinweisen. Dadurch wird die Übersichtlichkeit der Resultate

beeinträchtigt und die Interpretation erschwert.

Werden die Ergebnisse nach bestimmten Gesichtspunkten geordnet, so sind sie auch einer statistischen Untersuchung mit der χ^2 - Methode zugänglich.

Da fast alle Extrakte mit b.cereus kontaminiert waren, wurden nur die Ergebnisse aus diesen Versuchen als Grundlage für statistische Berechnungen verwertet. Dies erscheint auch dadurch berechtigt, daß die Bedeutung der Bakterien in den 96- und 168 - Stunden - Extrakten offensichtlich ist und die Versuche mit den zwei zufällig sterilen Extrakten aus verbrannter und nicht verbrannter Haut das gleiche Ergebnis zeigen (Abb. 18 und 29)

Nach dieser Auswahl ergibt die statistische Auswertung folgendes:

Nach der Injektion von Extrakten aus verbrannter Haut ist die Mortalität in den ersten 4 Tagen signifikant höher als nach der Injektion von Extrakten aus nicht verbrannter Haut. Nach dem 4.Tag ist kein Unterschied mehr festzustellen. Das Gleiche gilt für die Dosierung: Hohe Dosen von Extrakten aus verbrannter und nicht verbrannter Haut bewirken in den ersten 4 Tagen eine höhere Mortalität als niedrige Dosen. Nach dem 4.Tag besteht kein signifikanter Unterschied mehr.

In den Abb. 32 a und 32 b ist die Gesamtmortalität in

allen Versuchen mit durch *b.cereus* verunreinigten Extrakten aus verbrannter und nicht verbrannter Haut in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion (↑) dargestellt. In beiden Fällen ergeben sich zweigipfelige Kurven von ähnlichem Verlauf mit einem Maximum bei 1 Tag und einem zweiten Maximum bei 4 bis 5 Tagen nach der Injektion. Die Abb. 33 a und 33 b zeigen, daß der erste Gipfel von hohen Dosen und der zweite Gipfel vornehmlich von niedrigen Dosen hervorgerufen wird.

Diese Befunde lassen sich zwanglos mit der unterschiedlichen Verunreinigung der Extrakte durch *b.cereus* erklären.

- 1) Extrakte aus verbrannter Haut sind meist in höherem Maße bakteriell verunreinigt und entfalten deshalb eine größere Toxizität als Extrakte aus nicht verbrannter Haut.
- 2) Hohe Dosen enthalten mehr Bakterien als niedrige Dosen und haben deshalb eine höhere Mortalität zur Folge.
- 3) Der unspezifische Reiz der Extraktinjektion aktiviert in 4-5 Tagen latente Infektionen in den Rezipientenmäusen.

All dies weist darauf hin, die Todesursache der Versuchstiere weniger in einem im Extrakt enthaltenen "Verbrennungstoxin" als vielmehr in der Verunreinigung der Extrakte durch Bakterien zu suchen.

Versuche mit Extrakten aus verbrannter Haut
keimfreier Ratten-----

Aus Versuchen von KOSLOWSKI, URBASCHEK, SACQUET u.a.

(3) mit Extrakten aus verbrannter Haut von keimfreien Carworths-farm Ratten standen kleine Extraktportionen zur Verfügung. Die Extrakte wurden 2, 14, 24, 48 und 96 Stunden nach der Verbrennung in gleicher Weise wie oben beschrieben gewonnen. Der Extrakt, der 24 Stunden nach der Verbrennung hergestellt worden war, war geringfügig (mit einer nicht näher beschriebenen Keimart) verunreinigt. Alle anderen Extrakte waren steril. Sie wurden zum Transport bis zu 7 Tagen bei + 5° C aufbewahrt und insgesamt 60 männlichen weißen Mäusen in einer Dosierung von 0,08 ml / g Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Die Extrakte wurden vor der Injektion auf Zimmertemperatur erwärmt.

Ergebnis: In einem Beobachtungszeitraum von 10 Tagen ereignete sich kein Todesfall.

Versuche mit kontaminierten Extrakten:

Teile der oben erwähnten Extrakte wurden in 2 Gruppen mit bacillus pyocyaneus, einem im Rahmen der Verbrennungskrankheit wichtigen Krankheitserreger (8) kontaminiert und in einer Dosierung von 0,08 ml / g Körpergewicht 70 männliche

Mäusen injiziert. In Gruppe I enthielten 2 ml Extrakt (das ist die Dosis für eine 25 g schwere Maus) 2×10^6 Keime. In Gruppe II enthielten 2 ml Extrakt 5×10^6 Keime. Einer weiteren Gruppe von 20 Tieren wurde eine Suspension dieser Bakterien in physiologischer Kochsalzlösung in der gleichen Dosierung injiziert. Alle Tiere wurden 10 Tage lang beobachtet.

Ergebnisse: In Abb.34 sind die Todesfälle nach der Injektion von Extrakten, die mit *b.pyocyaneus* kontaminiert wurden aufgeführt, sowie die Todesfälle nach der Injektion einer Suspension von *b.pyocyaneus*.

Vergleicht man die beiden Versuche, so zeigt sich, daß nach der Injektion von sterilem Extrakt aus verbrannter Haut keimfreier Ratten keine Mortalität auftritt. Werden die gleichen Extrakte mit *b.pyocyaneus* kontaminiert, so ist nach deren Injektion eine geringe Mortalität zu beobachten, die aber trotz der kleinen Zahlen bedeutsam ist, da die Versuche zur gleichen Zeit unter den gleichen Bedingungen durchgeführt wurden und alle Rezipientenmäuse demselben Kollektiv entstammten. Bei allen Todesfällen konnte eine generalisierte Infektion mit *b.pyocyaneus* nachgewiesen werden.

Versuche mit Extrakten aus verbrannter Haut
keimfreier Ratten-----

Aus Versuchen von KOSLOWSKI, URBASCHEK, SACQUET u.a.

(3) mit Extrakten aus verbrannter Haut von keimfreien Carworths-farm Ratten standen kleine Extraktportionen zur Verfügung. Die Extrakte wurden 2, 14, 24, 48 und 96 Stunden nach der Verbrennung in gleicher Weise wie oben beschrieben gewonnen. Der Extrakt, der 24 Stunden nach der Verbrennung hergestellt worden war, war geringfügig (mit einer nicht näher beschriebenen Keimart) verunreinigt. Alle anderen Extrakte waren steril. Sie wurden zum Transport bis zu 7 Tagen bei + 5° C aufbewahrt und insgesamt 60 männlichen weißen Mäusen in einer Dosierung von 0,08 ml / g Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Die Extrakte wurden vor der Injektion auf Zimmertemperatur erwärmt.

Ergebnis: In einem Beobachtungszeitraum von 10 Tagen ereignete sich kein Todesfall.

Versuche mit kontaminierten Extrakten:

Teile der oben erwähnten Extrakte wurden in 2 Gruppen mit bacillus pyocyaneus, einem im Rahmen der Verbrennungskrankheit wichtigen Krankheitserreger (8) kontaminiert und in einer Dosierung von 0,08 ml / g Körpergewicht 70 männliche

Mäusen injiziert. In Gruppe I enthielten 2 ml Extrakt (das ist die Dosis für eine 25 g schwere Maus) 2×10^6 Keime. In Gruppe II enthielten 2 ml Extrakt 5×10^6 Keime. Einer weiteren Gruppe von 20 Tieren wurde eine Suspension dieser Bakterien in physiologischer Kochsalzlösung in der gleichen Dosierung injiziert. Alle Tiere wurden 10 Tage lang beobachtet.

Ergebnisse: In Abb.34 sind die Todesfälle nach der Injektion von Extrakten, die mit *b.pyocyaneus* kontaminiert wurden aufgeführt, sowie die Todesfälle nach der Injektion einer Suspension von *b.pyocyaneus*.

Vergleicht man die beiden Versuche, so zeigt sich, daß nach der Injektion von sterilem Extrakt aus verbrannter Haut keimfreier Ratten keine Mortalität auftritt. Werden die gleichen Extrakte mit *b.pyocyaneus* kontaminiert, so ist nach deren Injektion eine geringe Mortalität zu beobachten, die aber trotz der kleinen Zahlen bedeutsam ist, da die Versuche zur gleichen Zeit unter den gleichen Bedingungen durchgeführt wurden und alle Rezipientenmäuse demselben Kollektiv entstammten. Bei allen Todesfällen konnte eine generalisierte Infektion mit *b.pyocyaneus* nachgewiesen werden.

Versuche mit Bakterienaufschwemmungen:

Nach früheren Erfahrungen (3) wäre in dem oben beschriebenen Versuch mit einer Aufschwemmung von *b.pyocyaneus* eine höhere Mortalität zu erwarten gewesen. Die Vermutung lag nahe, daß durch die Lagerung der Bakteriensuspensionen bei + 5° C vom Beginn der Keimzählung bis zur Injektion eine teilweise Inaktivierung der Mikroorganismen stattgefunden haben könnte. Um diesen Störfaktor auszuschliessen, wurde in einem weiteren Versuch eine Suspension von *b. pyocyaneus* verwendet, deren Keimgehalt erst im Anschluß an die Injektion bestimmt wurde. Auf diese Weise ließ sich eine Kältebehandlung der Suspensionen vermeiden. Es wurden 20 männliche Mäuse in einer Dosierung wie bisher mit Suspensionen behandelt, die in 2 ml $1,34 \times 10^6$ bzw. $13,4 \times 10^6$ Keime enthielten.

Da fast alle Hautextrakte in den vorhergehenden Versuchen mit *b.cereus* verunreinigt waren, wurde an 30 Mäusen ein dem obigen analoger Versuch mit *b.cereus* in 3 Gruppen durchgeführt. Die verwendeten Suspensionen enthielten in 2 ml $2,25 \times 10^6$ bzw. $4,5 \times 10^6$ bzw. $9,0 \times 10^6$ Keime.

Ergebnisse: In den Abb. 35 und 36 sind die Ergebnisse in der gleichen Weise wie bisher dargestellt.

Wendet man die oben angegebene Typeneinteilung auf den Verlauf der Mortalitätskurven an, so ist die aus dem Versuch mit *b.pyocyaneus* zum Typ I zu zählen, die aus dem Versuch mit *b.cereus* zum Typ III. Offenbar ist *b.pyocyaneus* virulent genug, um in den angegebenen Zahlen einen raschen Anstieg der Mortalität in den ersten 24 Stunden hervorzurufen. *B.cereus* bewirkt in den ersten 6 Tagen keine Mortalität. Der darauf folgende Anstieg ist wohl anderen, schon erwähnten Ursachen zuzuschreiben.

Versuche mit kontaminierten Extrakten aus nicht verbrannter Rattenhaut:-----

In den Versuchen mit *b.cereus* waren die Keimzahlen pro Maus offenbar zu gering, um eine Absterberate zu bewirken, deren Verlauf den Kurventypen II oder gar I entsprochen hätte, wie das bei den Versuchen mit durch *b.cereus* verunreinigten Hautextrakten der Fall war. Es lag die Vermutung nahe, daß die genannten Extrakte weit mehr Bakterien enthielten oder daß sich Bakterien und Extrakt in ihrer Wirkung potenzieren könnten, etwa im Sinne einer Überlastung oder Blockierung des Abwehrapparates durch die Bestandteile des Extraktes oder einfach dadurch, daß der Extrakt in der Peritonealhöhle besonders günstige Voraussetzungen für die Vermehrung und Ausbreitung der Bakterien schafft. Um dies zu überprüfen, wurde erneut der Versuch unternommen, einen

keimfreien Hautextrakt herzustellen. Da dies aus verbrannter Haut kaum möglich ist, wurde unter verbesserten aseptischen Bedingungen aus der Haut unverbrannter Ratten ein Extrakt hergestellt. Ein Teil davon wurde mit großen Mengen von *b.cereus* bzw. *b.pyocyaneus* kontaminiert. Zur Kontrolle wurde Extrakt in nativem Zustand und Bakterien-suspensionen verwendet. Die Keimzählung erfolgte aus den bereits erwähnten Gründen nach der Injektion. Die Suspensionen wurden vor ihrer Verwendung 30 Minuten lang bei 37° C inkubiert. Das Injektionsmaterial für 200 männliche weiße Mäuse bestand demnach aus

- 1) Extrakt in nativem Zustand
- 2) kontaminiertem Extrakt
- 3) Bakteriensuspensionen.

Die Injektion erfolgte wie immer intraperitoneal in 2 Gruppen in einer Dosierung von 0,04 ml / g Körpergewicht bzw. 0,02 ml / g Körpergewicht. Die Versuchstiere wurden in 10 Untergruppen mit je 20 Tieren unterteilt, denen folgendes Material injiziert wurde:

- 1) Extrakt in nativem Zustand (E-1)
- 2) Extrakt in nativem Zustand (E-2)
- 3) Extrakt mit *b.cereus* (CE-1) ($1,21 \times 10^9$ Keime / ml)

- 4) Extrakt mit *b.cereus* (CE-2) ($12,13 \times 10^9$ Keime / ml)
- 5) Suspension von *b.cereus* in physiol. NaCl-Lösung (CK-1)
(Keimzahlen wie bei CE-1)
- 6) Suspension von *b.cereus* in physiol.NaCl-Lösung (CK-2)
(Keimzahlen wie bei CE-2)
- 7) Extrakt mit *b.pyocyaneus* (PE-1) ($9,3 \times 10^7$ Keime / ml)
- 8) Extrakt mit *b.pyocyaneus* (PE-2) ($93,3 \times 10^7$ Keime / ml)
- 9) Suspension von *b.pyocyaneus* in physiol.NaCl-Lösung (PK-1)
(Keimzahlen wie bei PE-1)
- 10) Suspension von *b.pyocyaneus* in physiol.NaCl-Lösung (PK-2)
(Keimzahlen wie bei PE-2)

Ergebnisse: Bei der bakteriologischen Untersuchung des Extraktes in nativem Zustand zeigte sich eine Verunreinigung mit *staphylococcus albus*. Die folgenden Ergebnisse müssen daher mit der Einschränkung bewertet werden, daß die Rolle von *staph. albus* in diesen Versuchen ungeklärt ist.

In Abb.37 sind die Todesfälle aller 10 Gruppen nach der Zeit geordnet aufgeführt. Die Art der Darstellung in den Diagrammen ist die gleiche wie bisher.

In Abb.38 bis 46 fällt auf, daß nur 2 Kurventypen vorkommen und zwar Typ I und III. Offenbar entfaltet der Extrakt in nativem Zustand trotz seiner Verunreinigung mit *staphylococcus albus* nur geringe Toxizität, so daß in einem Falle in den ersten 6 Tagen nach der Injektion sich kein

Todesfall ereignete (Abb.38) und im anderen in den ersten 4 Tagen nur einer. (Abb.39) Weiter fällt auf, daß nach der Injektion einer Suspension von *b.cereus* im Falle der relativ niedrigen Dosierung überhaupt keine Mortalität auftritt und im Falle der hohen Dosierung nur geringe. (Abb.40) Die Diskrepanz zwischen diesem und dem Ergebnis des vorhergehenden Versuches mit *b.cereus* (Abb.36) läßt sich mit der schon erwähnten unterschiedlichen Kondition der Rezipientenmäuse erklären. Immerhin war auch im letztgenannten Fall die Gruppe II mit $4,5 \times 10^6$ Keimen pro Maus ohne Todesfall. Am auffälligsten aber ist die sehr rasch einsetzende, hohe Sterblichkeit nach der Injektion von kontaminierten Extrakten. Sie ist vergleichbar mit der Absterberate in den Versuchen mit 96 - und 168 - Stunden-Extrakt. (Abb.43-46 und 19-20)

Im Gegensatz zu *b.cereus* bewirkt *b.pyocyaneus* in physiologischer Kochsalzlösung eine hohe Mortalität (Abb.41 und 42), obwohl er in 13 mal geringerer Anzahl als *b.cereus* verwendet wurde. Wird *b.cereus* bzw. *b.pyocyaneus* jedoch in einem Hautextrakt verabreicht, so ist die Mortalität in beiden Fällen gleich groß.

Diese Versuche zeigen die besonderen Eigenschaften von *b.cereus* und weisen auf dessen große Bedeutung hin, wenn er als Verunreinigung in Hautextrakten auftritt. *Bacillus*

cereus darf also bei Versuchen mit Hautextrakten an Mäusen nicht wie bisher als apathogen betrachtet werden.

Elektrophoretische Untersuchungen

Bei fast allen Versuchen wurde Venenblut und Hautextrakt von verbrannten und nicht verbrannten Ratten papier-elektrophoretisch untersucht, um Veränderungen der Proteine des Serums und der Haut erfassen zu können. Es zeigte sich, daß sich die α_2 - und β -Globulinfraktion des Rattenserums im elektrischen Spannungsfeld nicht oder nur unvollkommen trennen. Deshalb werden sie im folgenden gemeinsam aufgeführt.

Die papierelektrophoretische Untersuchung der Homogenate aus Leber und Milz lieferte keine brauchbaren Ergebnisse, da die einzelnen Fraktionen auf den Elphorstreifen nicht eindeutig zu unterscheiden waren.

Ergebnisse: In den Diagrammen (Abb.47 bis 56) sind die relativen Werte von Albumin, α_1 -, $\alpha_2 + \beta$ - und γ -Globulin sowie der Gesamtproteinwert in g% dargestellt. Bei mehreren Bestimmungen wurde der Mittelwert eingetragen. Als Ausgangswert wurde das arithmetische Mittel aus 7 Einzelmessungen an nicht verbrannten Tieren gewählt. Das unterbrochen umrahmte Feld markiert den Minimal- und Maximalwert des ermittelten Normbereiches.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse mit der Varianzanalyse ergibt folgendes:

In Extrakten aus verbrannter Haut ist der Albuminanteil signifikant größer als in Extrakten aus nicht verbrannter Haut. Dies ist damit zu erklären, daß die Albumine die kleinsten Plasmaproteine sind und deshalb am ehesten bei gesteigerter Gefäßpermeabilität die Blutbahn verlassen und in die geschädigten Hautbezirke abwandern. Im Serum der verbrannten Tiere läßt sich jedoch keine Veränderung des Albuminanteils nachweisen.

Die α_1 -Globulinfraction ist sowohl im Hautextrakt als auch im Serum der verbrannten Tiere signifikant höher als bei nicht verbrannten Tieren. (6)

Die anderen Proteine in der Haut und im Serum zeigen keine signifikanten Unterschiede bei verbrannten und nicht verbrannten Tieren. Im Serum der verbrannten Tiere ist eine Verminderung der γ -Globuline angedeutet, doch läßt sich dieser Befund statistisch nicht sichern. In keinem Falle ist in der Beziehung zwischen quantitativer Eiweißveränderung und der Zeit nach der Verbrennung ein linearer Trend zu beobachten.

Diese Verhältnisse können zum Teil auch damit erklärt werden, daß die Ausgangswerte stark streuen und deshalb trotz der differenten Einzelwerte keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden kann.

Diskussion

Es ist praktisch unmöglich, einen keimfreien Extrakt aus der Haut konventioneller Ratten herzustellen. Extrakte aus sowohl verbrannter als auch nicht verbrannter Haut sind fast immer mit Bakterien verunreinigt. Deshalb kann eine für verbrannte Haut spezifische Toxizität nicht nachgewiesen werden.

Die höhere Keimbesiedelung von verbrannter Haut ist wahrscheinlich damit zu erklären, daß die devitalisierten Epidermisschichten eindringenden Bakterien keinen Widerstand mehr leisten können. Oberflächliche Desinfektionsmaßnahmen und die kurzdauernde Hitzeeinwirkung bei der Verbrennung verringern die Bakterienflora offenbar nicht wesentlich.

Für die Verunreinigung der Extrakte aus nicht verbrannter Haut mit *b.cereus* allein ist wohl eine selektierende Wirkung des Desinfektionsmittels verantwortlich zu machen.

In früheren Versuchen mit Extrakten aus verbrannter Haut (3) wurde eine ähnlich unterschiedliche Absterberate beobachtet, doch waren die Extrakte mit der größten Toxizität zu anderen Zeitpunkten nach der Verbrennung entnommen als in den hier beschriebenen Versuchen. Eine

regelmäßige Abhängigkeit der Dichte der Bakterienflora von der Zeit nach der Verbrennung ist deshalb in den ersten 96 Stunden unwahrscheinlich. Das gleiche gilt wohl auch für eine diskutierte unterschiedliche pathogene Aktivität der Bakterien in Abhängigkeit von der Zeit nach der Verbrennung.

Offensichtlich ist dagegen die Abhängigkeit der Bakterienbesiedelung von der Zeit nach der Verbrennung bei den Extrakten, die nach 96 und 168 Stunden gewonnen wurden. Die Ursachen dafür liegen in den pathologisch-anatomischen Veränderungen der Haut und in der wesentlich längeren Exposition gegenüber Sekundärinfektionen.

Für den Anstieg der Mortalität am 4. bis 6.Tag nach der Injektion ist wohl eine Aktivierung latenter Infektionen durch die Injektionsbelastung verantwortlich zu machen. Dafür sprechen bakteriologische Befunde und die Ergebnisse der Versuche mit den zwei zufällig sterilen Extrakten aus verbrannter und nicht verbrannter Haut. Andererseits ist auch an ein in Extrakten aus verbrannter und nicht verbrannter Haut konventioneller Ratten enthaltenes Agens zu denken, das durch die bakteriologische Untersuchung nicht nachgewiesen wird. Hierfür spricht, daß nach der Injektion von Extrakten aus verbrannter Haut keimfreie Raten auch nach dem 5.Tag keine

Mortalität auftritt. Doch kann dieser Befund wieder durch den unterschiedlichen, in diesem Falle besseren Gesundheitszustand der Rezipientenmäuse erklärt werden. Daraus geht hervor, daß für die Untersuchung der Toxizität von verbrannter Haut sterile Extrakte und Versuchstiere von einheitlich gutem Gesundheitszustand verwendet werden müssen.

Die große Bedeutung der bakteriellen Faktoren für die Toxizität von verbrannter Haut wird beim Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit denen der oben genannten Arbeit von KOSLOWSKI und Mitarbeitern besonders deutlich: Werden s t e r i l e Extrakte aus der verbrannten Haut k e i m f r e i e r R a t t e n s t a n d a r d i s i e r t e n p a t h o g e n f r e i e n Mäusen injiziert, so tritt k e i n e Mortalität auf.

Das Problem der Toxizität von verbrannter Haut kann deshalb nur unter Ausschluß bakterieller Faktoren untersucht werden.

Zusammenfassung

Aus der drittgradig verbrannten, intravital entnommenen Haut konventioneller Ratten werden Extrakte hergestellt und Mäusen intraperitoneal injiziert. Ebenso werden Mäuse mit Extrakten aus nicht verbrannter Haut behandelt. Die Mortalität ist nach der Injektion von Extrakten aus verbrannter Haut anfänglich höher als nach der Injektion von Extrakten aus nicht verbrannter Haut. Dies ist auf die größere Keimmenge auf der verbrannten Haut zurückzuführen. Auf die besondere Bedeutung von *Bacillus cereus* in diesen Versuchen wird hingewiesen. Sterile Extrakte von keimfreien Ratten verursachen keine Sterblichkeit. Die Veränderungen der Proteine der Haut und des Serums der verbrannten Tiere entsprechen den bisherigen Erfahrungen.

Literatur

- 1) KOSLOWSKI: Zur Pathogenese und Therapie der Verbrennungskrankheit. Ungelöste Probleme der Chirurgie. G. Thieme Verlag 1964
- 2) DERS.: Die Verbrennungskrankheit.
Dt.med.Wschr. 88-5/233-239/1963
- 3) DERS.: persönl.Mitteilung
- 4) LIEBERG: Antibacterial resistance in burns I.acta
chir.scand. 120 / 88-94 / 1960
- 5) LAMMANA, JONES:
Letality for mice of vegetative and
spore forms of bacillus cereus
J.of bact. 85 / 532 - 535 / 1963
- 6) ARTURSON: Serum proteins and serum-bound carbohydrates in burnet rats.
acta chir. scand.120/309-317/1961
- 7) HINSHAW, PEARSE: Histologic techniques for the differential staining of burnet and normal tissues.
Surg.gynec.obst.103 / 726-730 /1956
- 8) TUMBUSH: The rising incidence of pseudomonas septicemia following burn injury.
Research in burns. Curtis P.Artz 1962
- 9) ALTEMEIER: Dynamics in infection in burns.ebenda
- 10) MILLICAN: Role of infection in delayed deaths of mice following extensive burn injury. ebenda
- 11) Lowbury: Infection of burns. Brit.med.j.
2 / 994 / 1960
- 12) STENBERG: Studies of the liver function in experimental burns.
acta chir.scand.123/ 159-170 /1962
- 13) HEGEMANN: Verbrennungen. Lehrbuch der Chrurgie.
Hellner, Nissen, Voßschulte.G.Thieme Verlag
- 14) HÜNER: Autointoxikation und Autoimmunisation.
Chirurg. 3/ 99 - 103 / 1965.

A b b i l d u n g e n

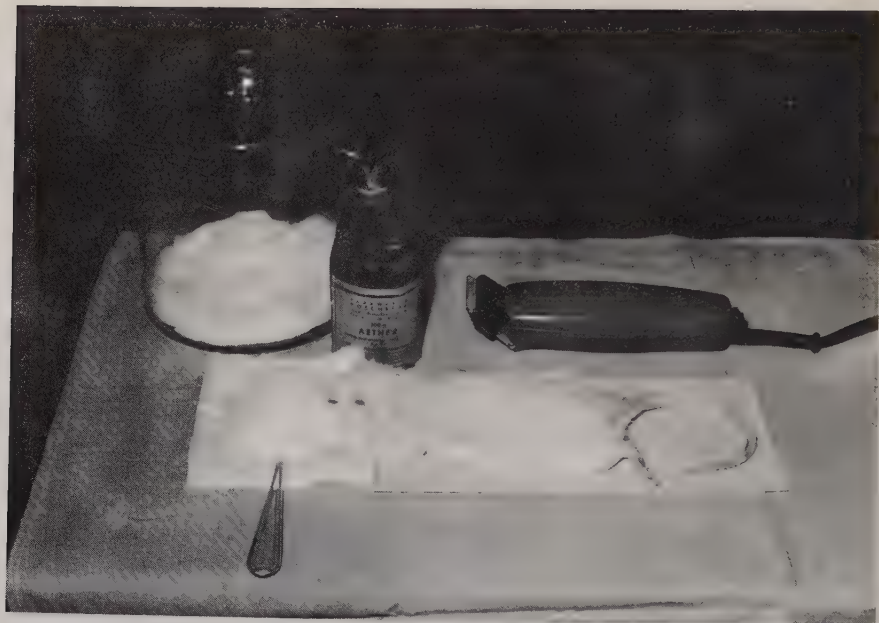


Abb. 1

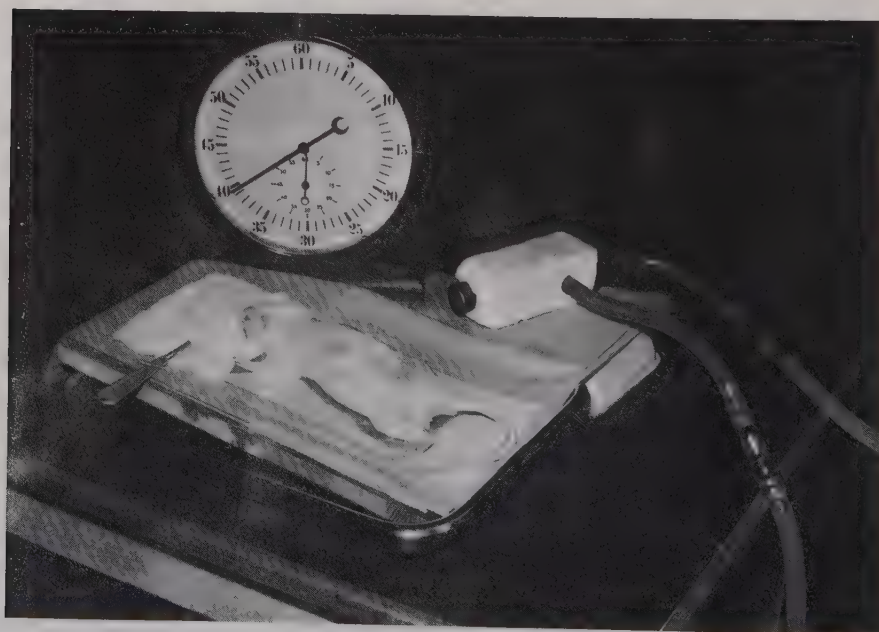


Abb. 2

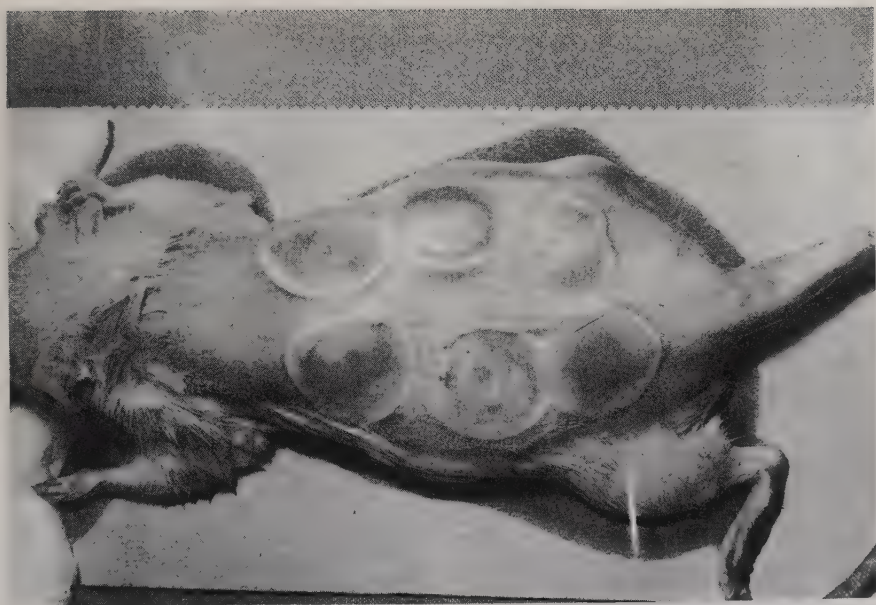


Abb. 3

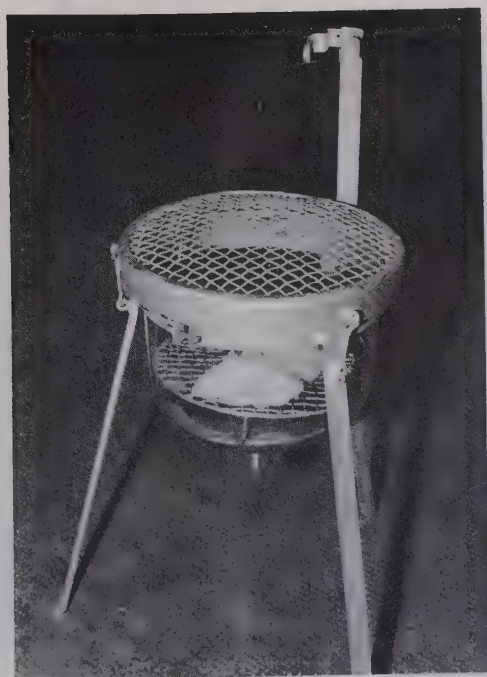


Abb. 4

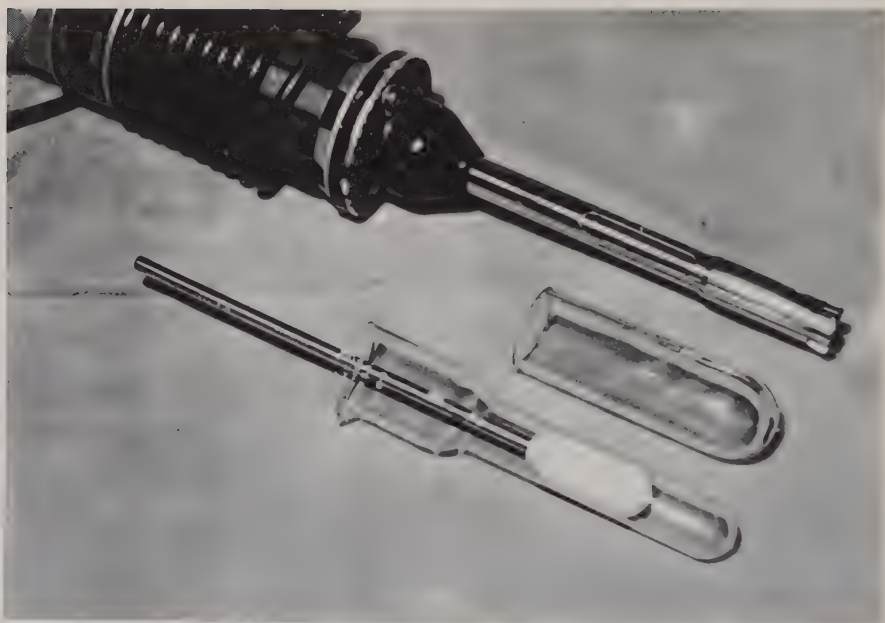
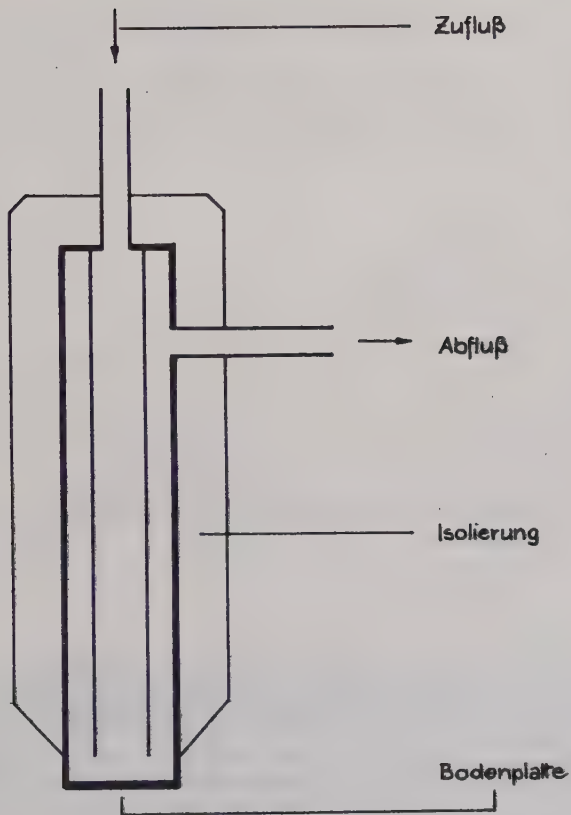


Abb. 5



Abb. 6

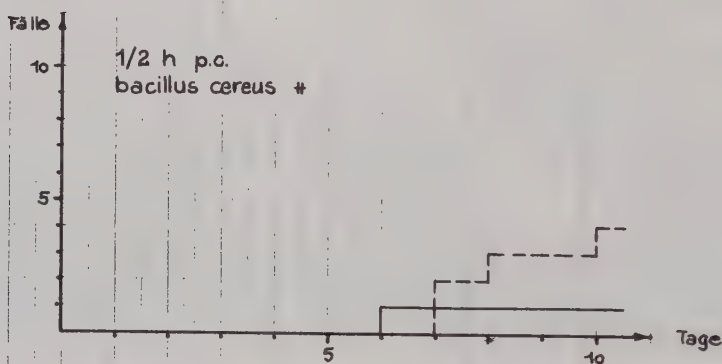


Verbrennungstempel

Abb. 7

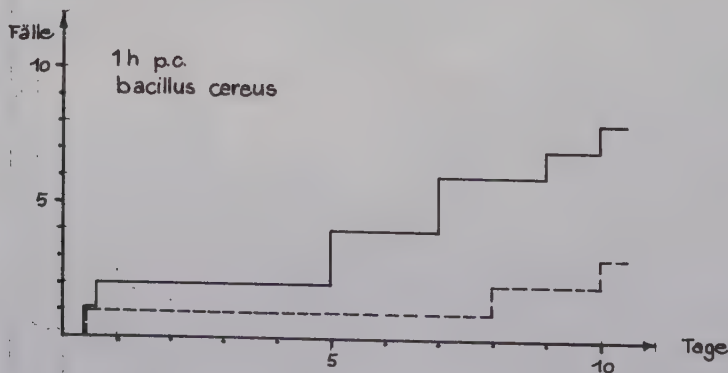
tot nach	6 d	7 d	8 d	10 d	Zusammen
I (8)	—	2	1	1	4
II (8)	1	—	—	—	1

Abb. 8



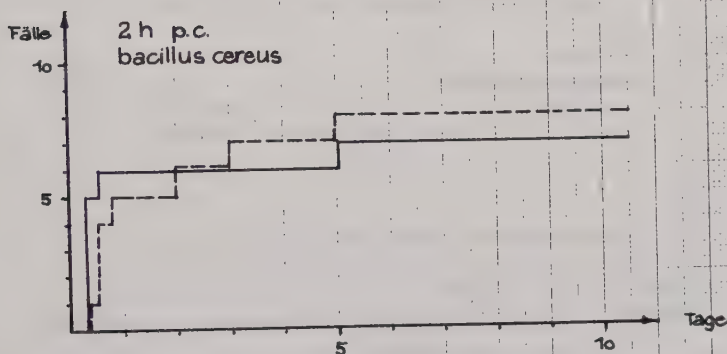
tot nach	8 h	14 h	5 d	7 d	8 d	9 d	10 d	Zusammen
I (8)	1	—	—	—	1	—	1	3
II (8)	1	1	2	2	—	1	1	8

Abb. 9



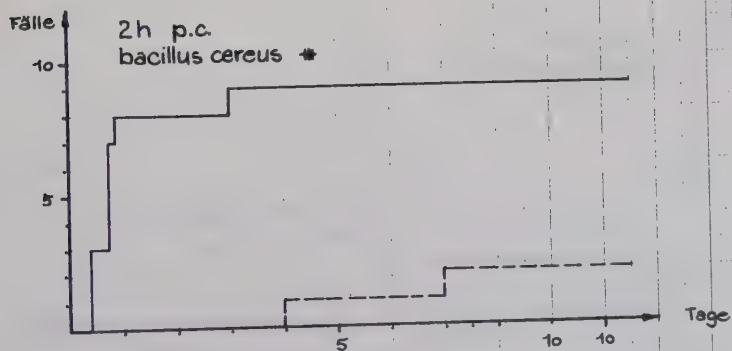
tot nach	9h	13h	19h	47h	3d	4d	5d	Zusammen
I (8)	1	3	1	1	1	—	1	8
I (8)	5	1	—	—	—	—	1	7

Abb. 10



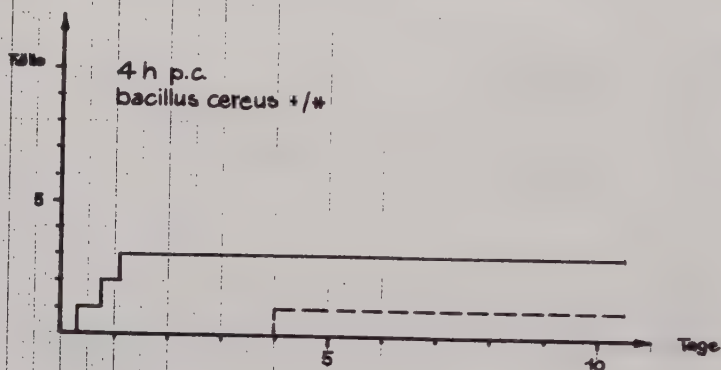
tot nach	8h	18h	20h	3d	4d	7d	Zusammen
I (10)	—	—	—	—	1	1	2
I (10)	3	4	1	1	—	—	9

Abb. 11



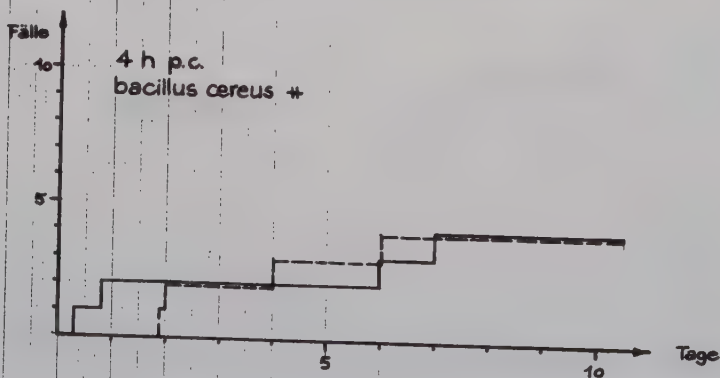
tot nach	8 h	17 h	26 h	4 d	Zusammen
I (10)	—	—	—	1	1
I (10)	1	1	1	—	3

Abb. 12



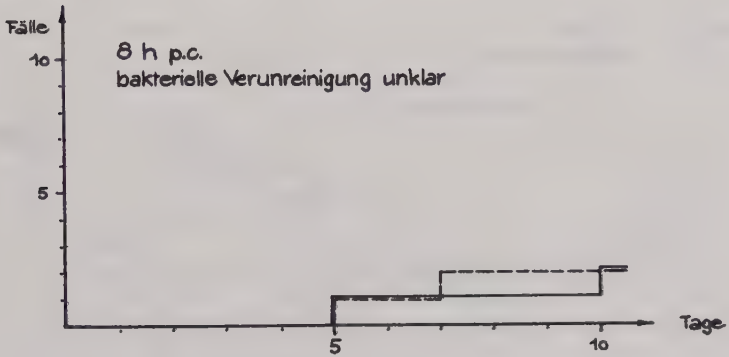
tot nach	8h	18h	46h	2 d	4 d	6 d	7 d	Zusammen
I (10)	—	—	1	1	1	1	—	4
I (10)	1	1	—	—	—	1	1	4

Abb. 13



tot nach	5d	7d	10d	Zusammen
I(10)	1	1	—	2
I(10)	1	—	1	2

Abb. 14



tot nach	8h	18h	29h	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	Σ
I (10)	—	—	—	—	2	3	—	—	1	1	1	8
O (10)*	—	—	—	1	1	—	1	3	1	1	—	8
I (10)	3	3	1	1	1	—	—	1	—	—	—	10

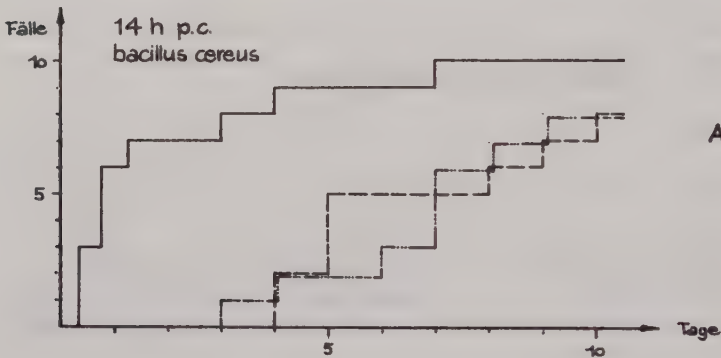


Abb. 15

tot nach	20h	32h	42h	4d	5d	6d	7d	8d	Zusammen
I (10)	—	—	—	1	3	—	1	—	5
I (10)	1	1	2	—	—	2	—	1	7

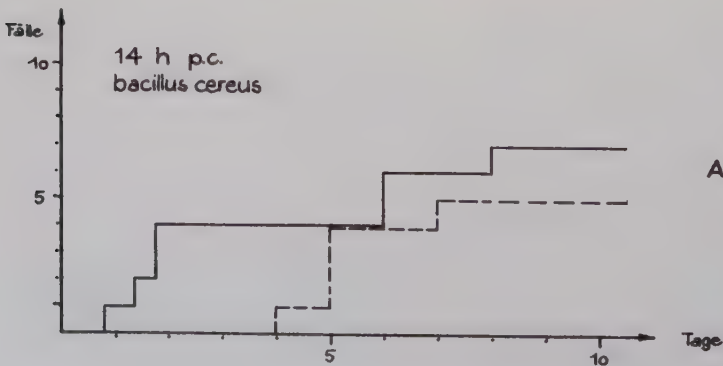
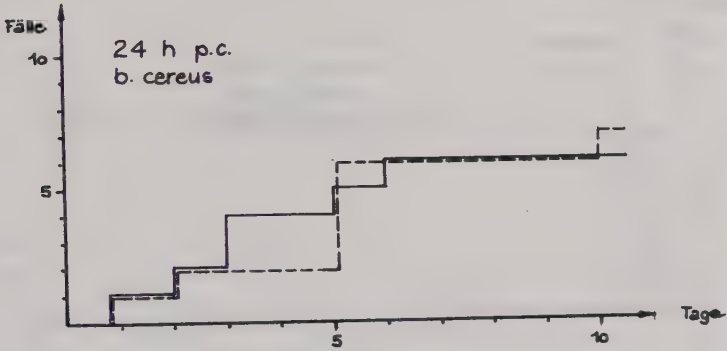


Abb. 16

* Sondergruppe. (Dosierung: 0,06 ml/g Körpergewicht)

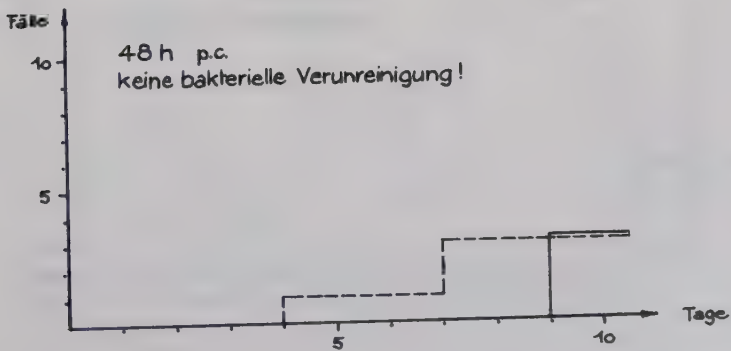
tot nach	21 h	2 d	3 d	5 d	6 d	10 d	Zusammen
I (10)	1	1	—	4	—	1	7
I (10)	1	1	2	1	1	—	6

Abb. 17



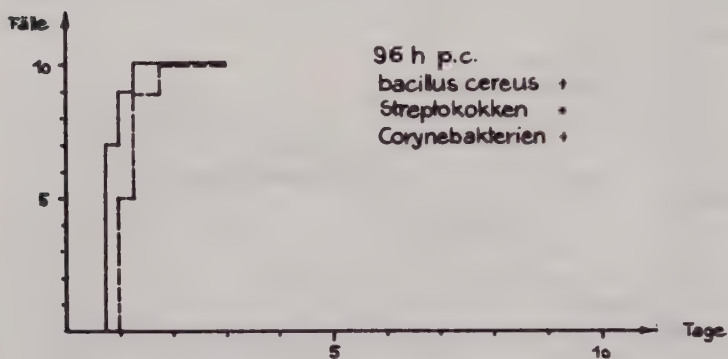
tot nach	4 d	7 d	9 d	Zusammen
I (10)	1	2	—	3
I (10)	—	—	3	3

Abb. 18



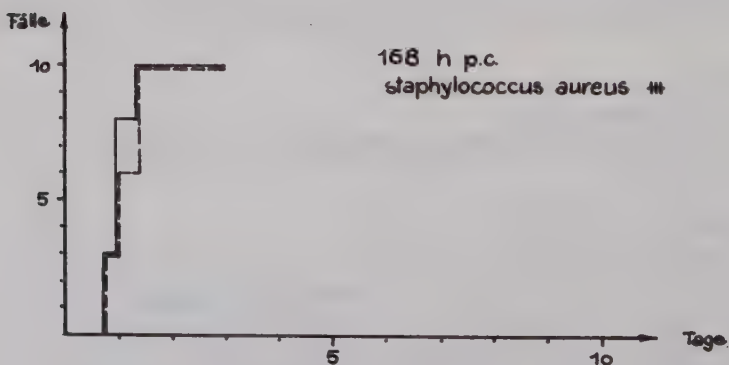
tot nach	18 h	23 h	31 h	42 h	Zusammen
I (10)	—	5	4	1	10
I (10)	7	2	1	—	10

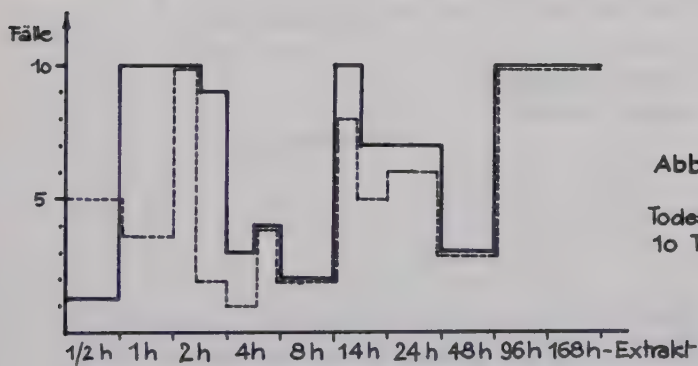
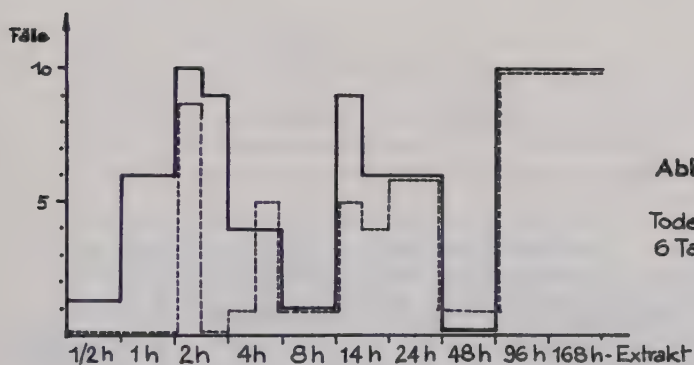
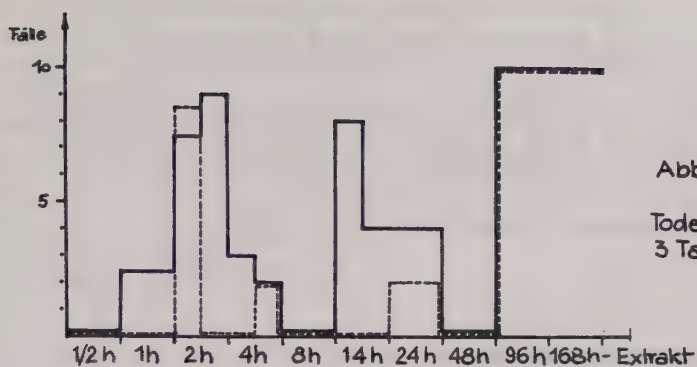
Abb. 19



tot nach	18 h	23 h	31 h	Zusammen
I (10)	3	3	4	10
I (10)	3	5	2	10

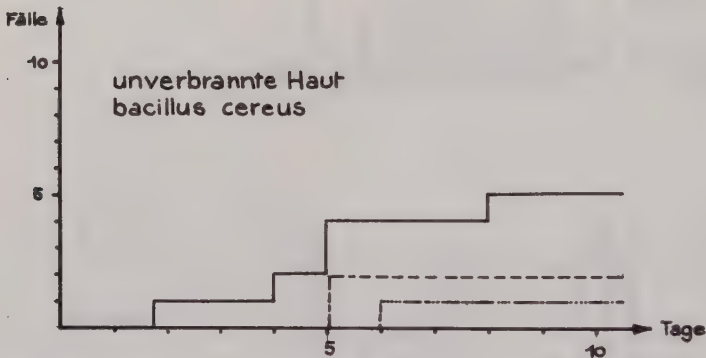
Abb. 20





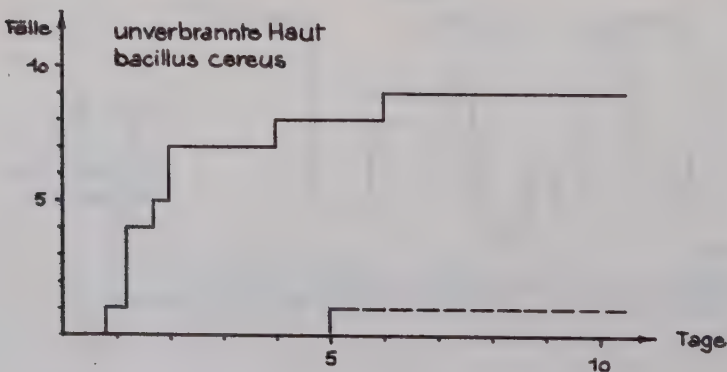
tot nach	42 h	4 d	5 d	6 d	8 d	Zusammen
o (1o)*	—	—	—	1	—	1
I (1o)	—	—	2	—	—	2
II (1o)	1	1	2	—	1	5

Abb. 24



tot nach	19 h	29 h	42 h	47 h	4 d	5 d	6 d	Zusammen
I (1o)	—	—	—	—	—	1	—	1
II (1o)	1	3	1	2	1	—	1	9

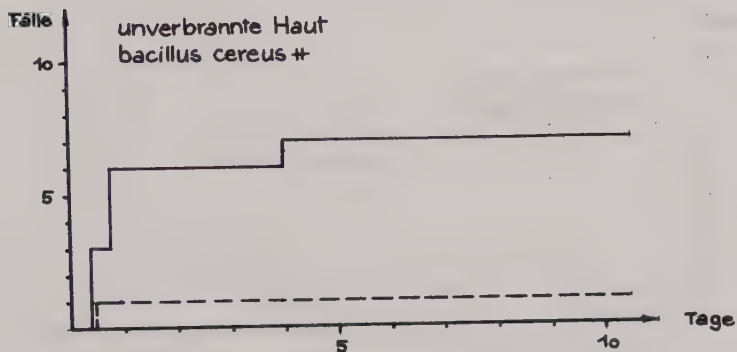
Abb. 25



* Sondergruppe. (Dosierung: 0.02 ml/g Körpergewicht)

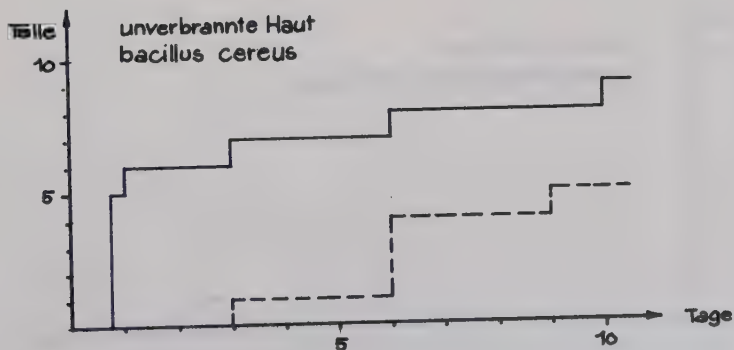
tot nach	5 h	9 h	18 h	4 d	Zusammen
I (1o)	—	1	—	—	1
II (1o)	—	3	3	1	7

Abb. 26



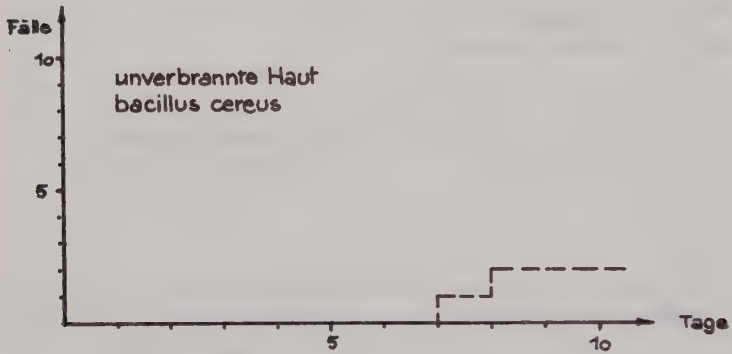
tot nach	18 h	25 h	3 d	6 d	9 d	10 d	Zusammen
I (1o)	—	—	1	3	1	—	5
II (1o)	5	1	1	1	—	1	9

Abb. 27



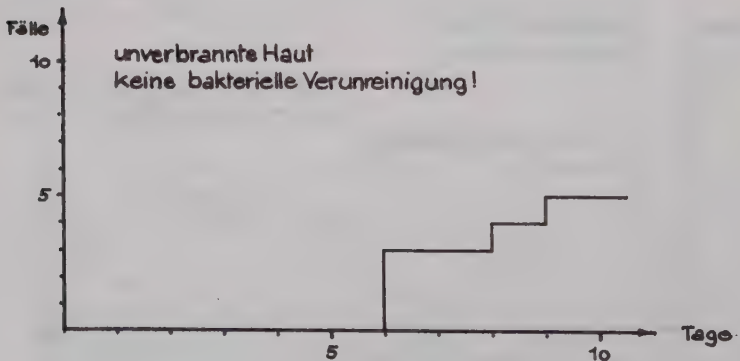
tot nach	7 d	8 d	Zusammen
I (10)	1	1	2
I (10)	—	—	—

Abb. 28



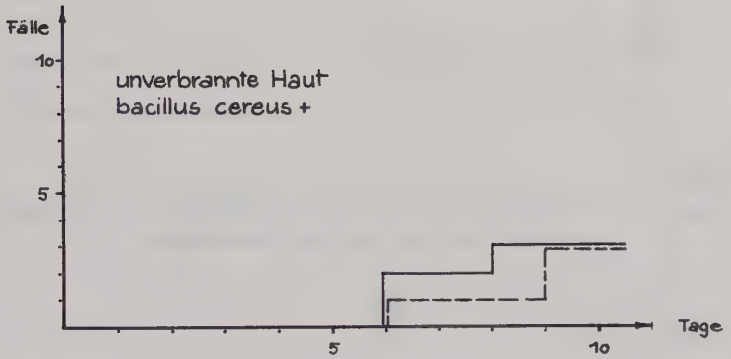
tot nach	6 d	8 d	9 d	Zusammen
I (10)	3	1	1	5

Abb. 29



tot nach	6 d	8 d	9 d	Zusammen
I (10)	1	—	2	3
II (10)	2	1	—	3

Abb.30



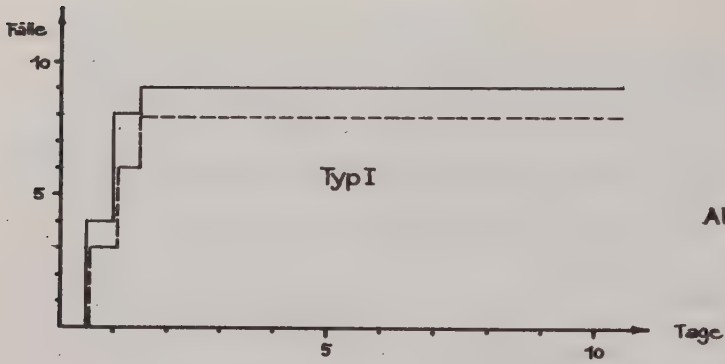


Abb. 31

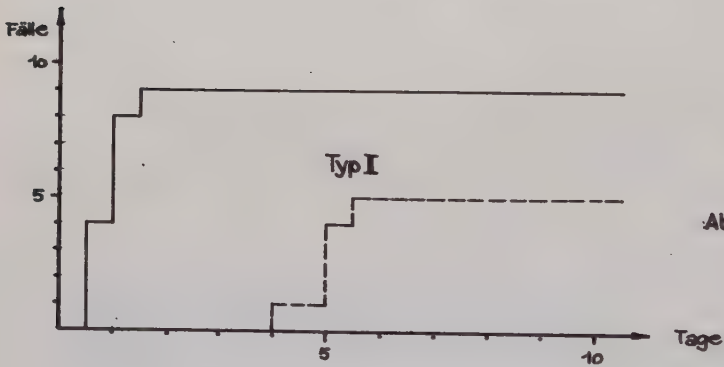


Abb. 32

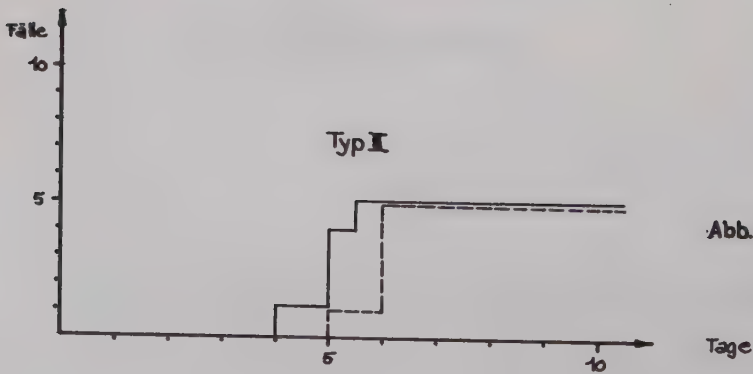


Abb. 33

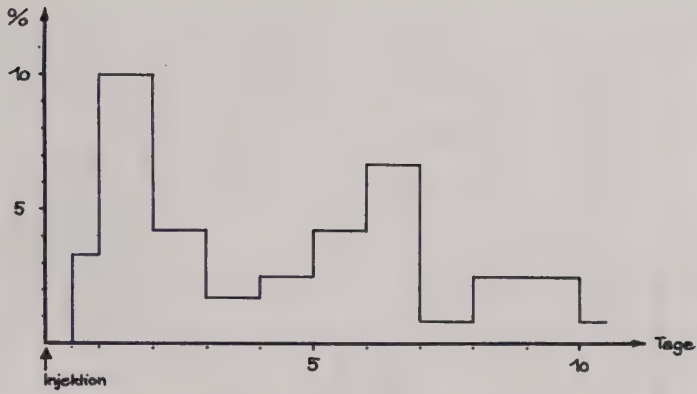


Abb. 32 a Gesamtmortalität nach Injektion von Extrakten aus nicht verbrannter Haut mit *bacillus cereus*

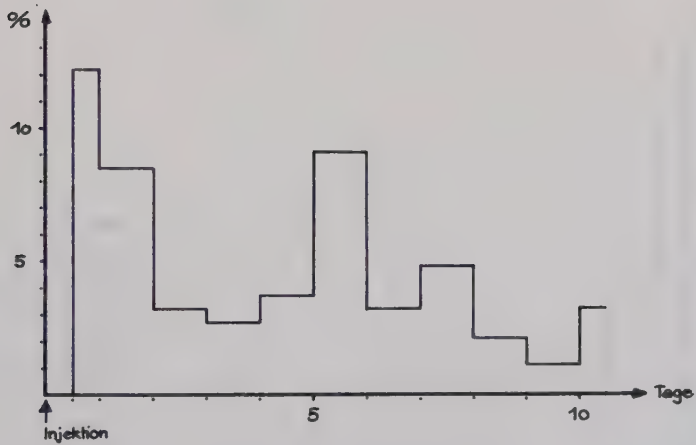
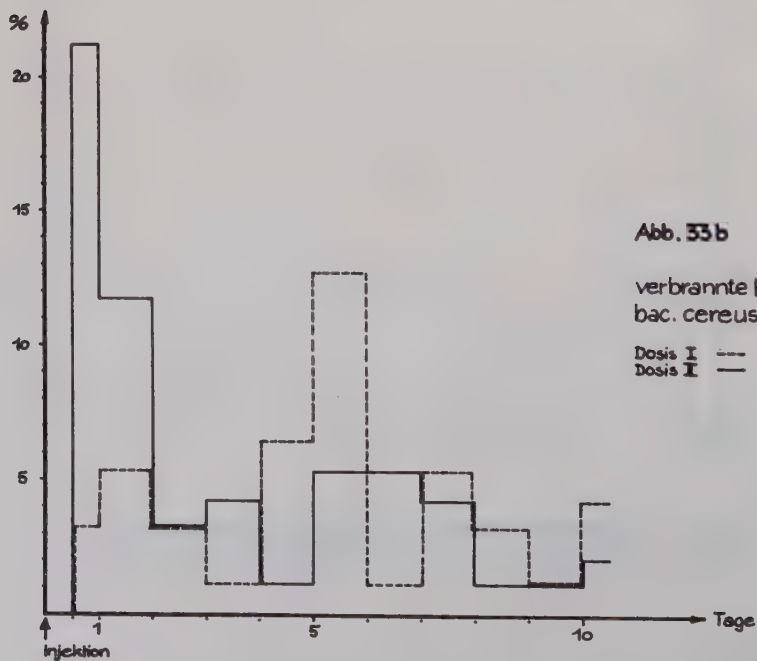
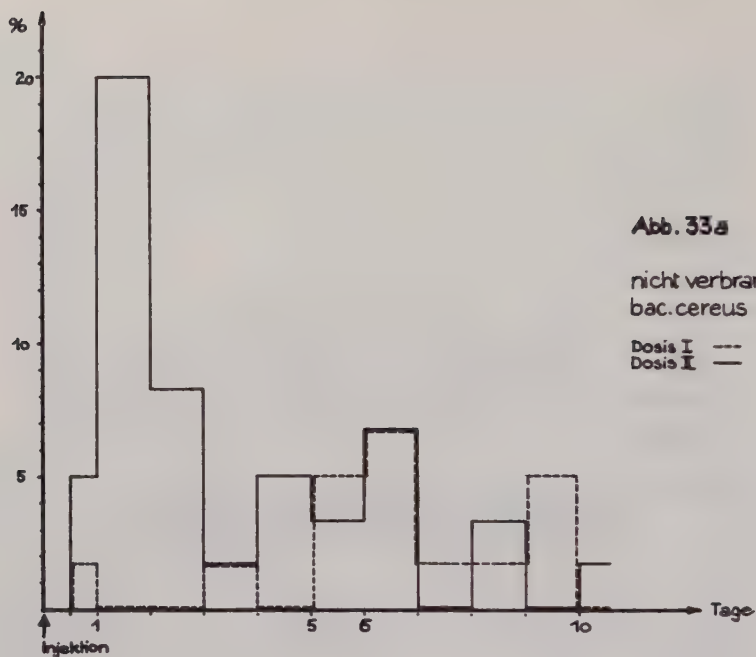


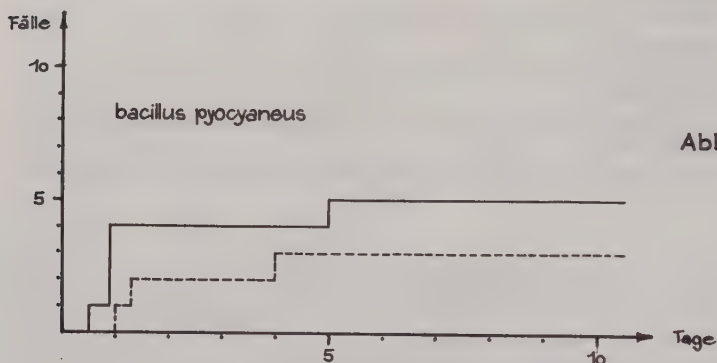
Abb. 32 b Gesamtmortalität nach Injektion von Extrakten aus verbrannter Haut mit *b. cereus*



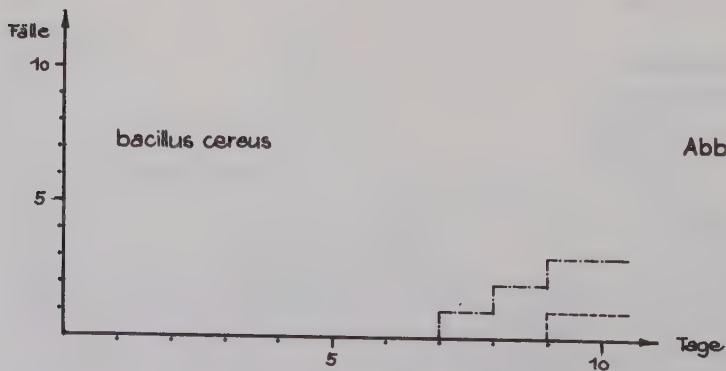
tot nach		19 h	33 h	5 d	6 d	10 d	Zusammen
PE-2h	$\frac{I}{I}$	1			1	1	$\frac{2}{1}$
PE-24h	$\frac{I}{I}$		1				$\frac{0}{1}$
PE-48h	$\frac{I}{I}$						$\frac{0}{0}$
PE-96h	$\frac{I}{I}$			1		1	$\frac{2}{0}$
PK-	$\frac{I}{I}$				1		$\frac{1}{0}$

Abb.34

tot nach	13 h	22 h	24 h	32 h	4 d	5 d	Zusammen
I (10)			1	1	1		3
I (10)	1	3				1	5

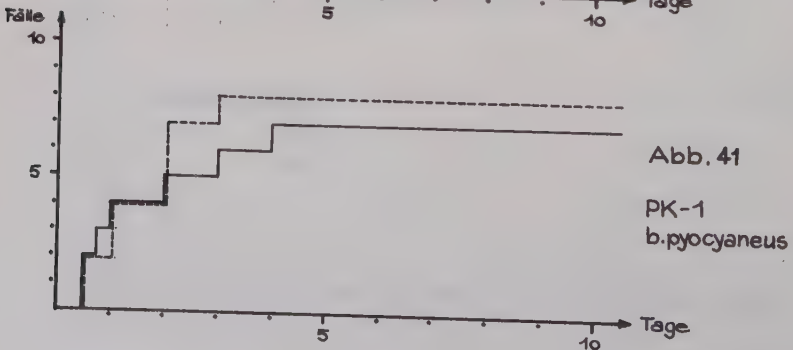
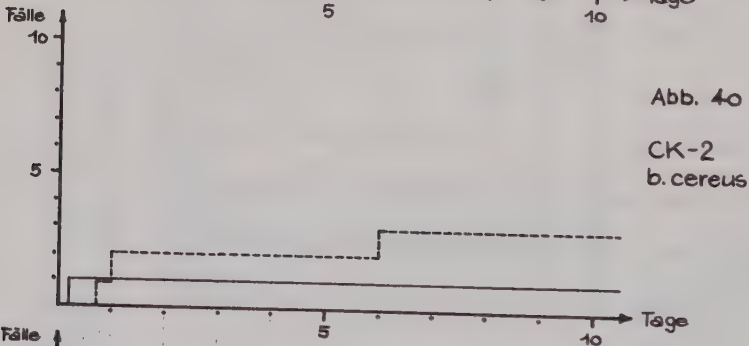
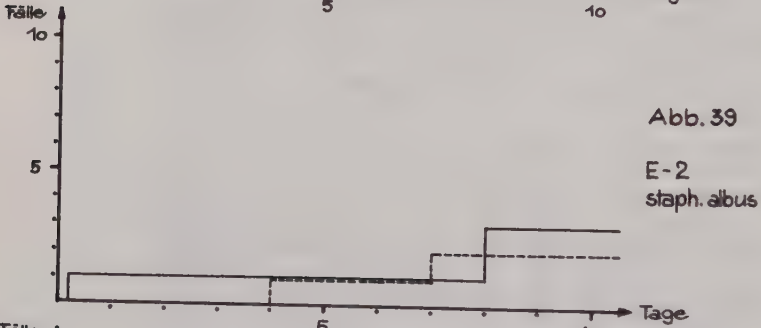
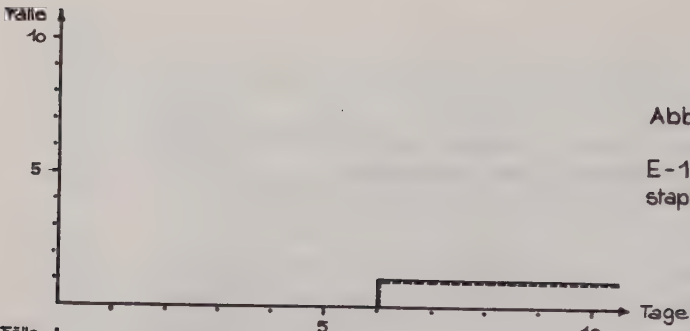


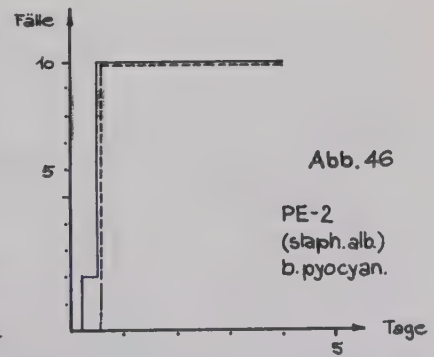
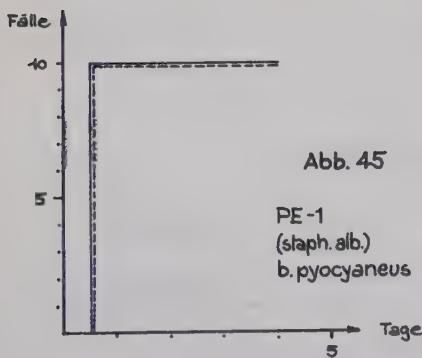
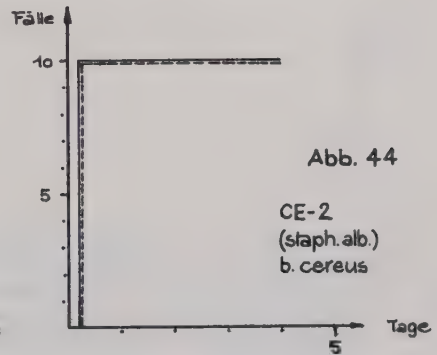
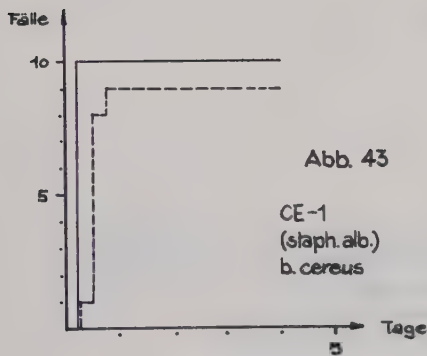
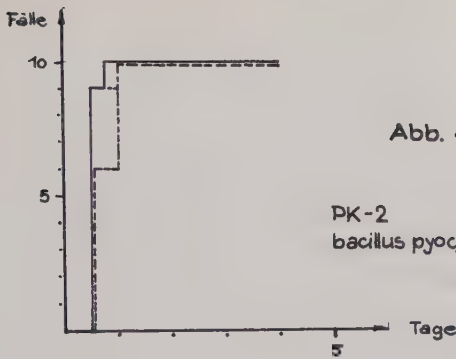
tot nach	7 d	8 d	9 d	Zusammen
I (10)			1	1
II (10)				0
III (10)	1	1	1	3

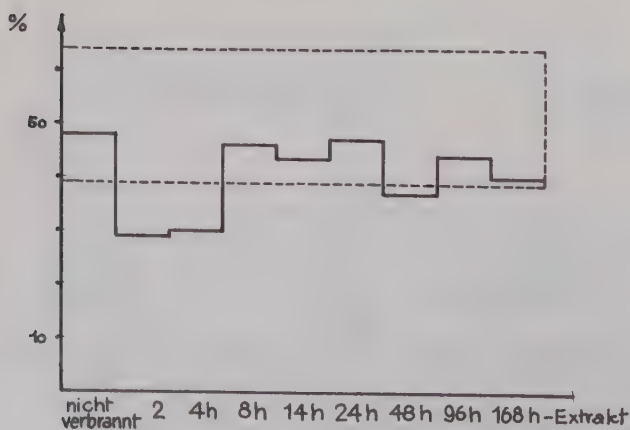
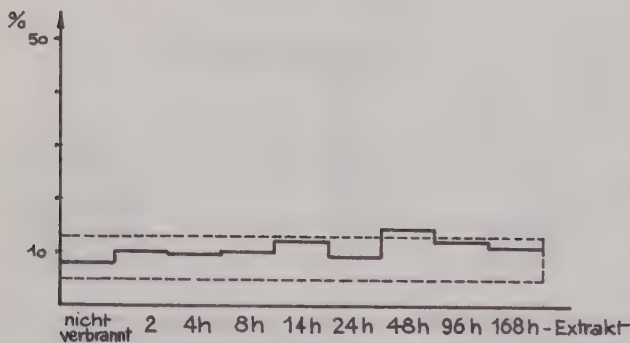
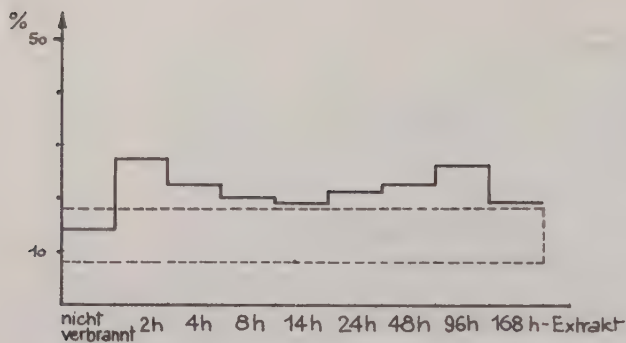


Injektions- material	tot nach:	4 h	12h	18h	24h	48h	3 d	4 d	6 d	7 d	8 d	Zusammen
		$I_{(10)}^{(10)}$							$I_{(10)}^{(10)}$			
Extrakt	E-1 $I_{(10)}^{(10)}$							1	1			1
	E-2 $I_{(10)}^{(10)}$	1						1		1	2	3
	CE-1 $I_{(10)}^{(10)}$	1	7	1								9
	CE-2 $I_{(10)}^{(10)}$	10										10
	CE-2 $I_{(10)}^{(10)}$	10										10
Extrakt mit bacillus cereus bzw. b. pyocyaneus	PE-1 $I_{(10)}^{(10)}$		10									10
	PE-1 $I_{(10)}^{(10)}$		10									10
	PE-2 $I_{(10)}^{(10)}$	2	10									10
	PE-2 $I_{(10)}^{(10)}$		6									10
	PE-2 $I_{(10)}^{(10)}$											10
Suspension von bacillus cereus bzw. b. pyocyaneus	CK-1 $I_{(10)}^{(10)}$								1			0
	CK-1 $I_{(10)}^{(10)}$											0
	CK-2 $I_{(10)}^{(10)}$	1		1	1							3
	CK-2 $I_{(10)}^{(10)}$											1
	CK-2 $I_{(10)}^{(10)}$											3
Suspension von bacillus cereus bzw. b. pyocyaneus	PK-1 $I_{(10)}^{(10)}$		2	1	2	3	1	1				8
	PK-1 $I_{(10)}^{(10)}$		2	1	1	1	1	1				7
	PK-1 $I_{(10)}^{(10)}$		2	1	1	1	1	1				7
	PK-2 $I_{(10)}^{(10)}$		6	3	1							10
	PK-2 $I_{(10)}^{(10)}$		9	1								10

Abb. 3f







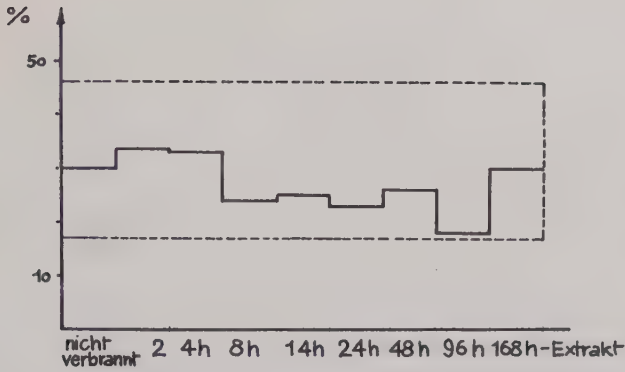


Abb. 50

Hautextrakt
 γ -Globulin

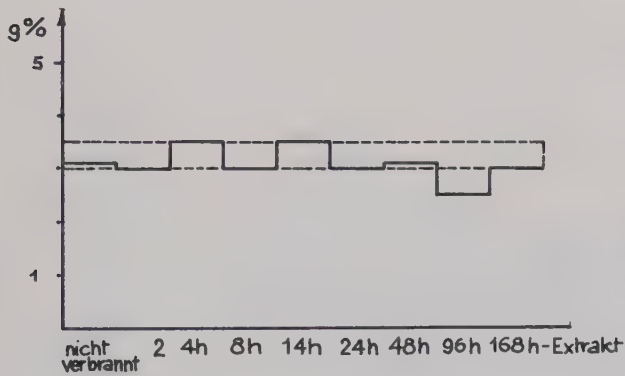


Abb. 51

Hautextrakt
Gesamtprotein

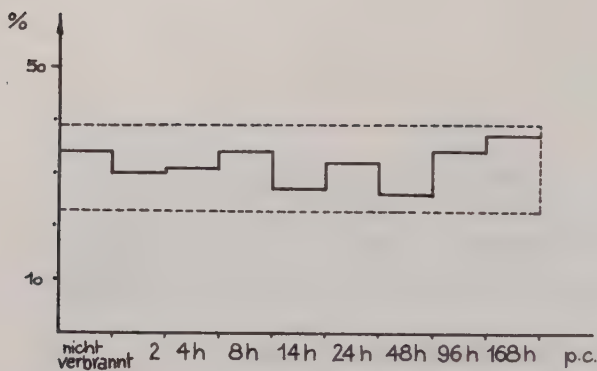


Abb. 52

Serum
Albumin

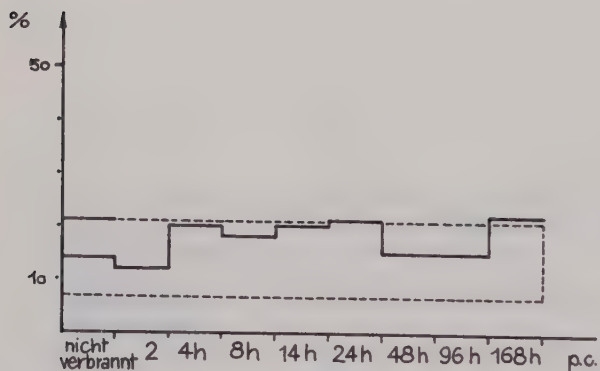


Abb. 53

Serum
α-1 Globulin

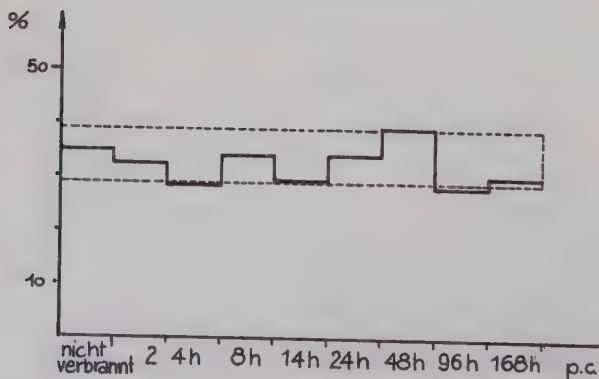
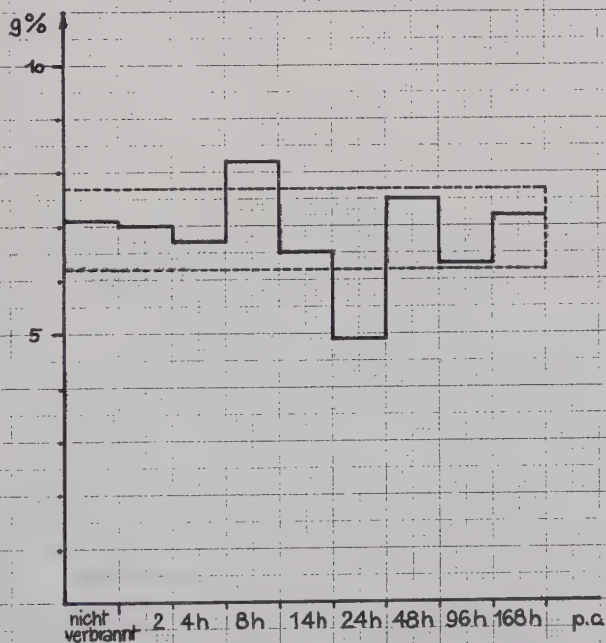
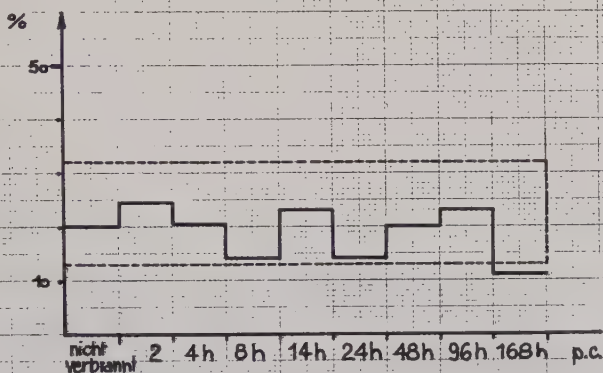


Abb. 54

Serum
α2+β Globulin



Herzlichen Dank sage ich Frau V.Karbe für die Anfertigung der mikroskopischen Schnitte und Frau M. Schmitz für die papierelektrophoretischen Untersuchungen sowie Herrn Dr.Weiß vom tierhygienischen Institut der Universität Freiburg für die bakteriologischen Untersuchungen.

Lebenslauf

Am 19. Februar 1941 wurde ich in Cad Cannstatt als drittes Kind des Notariatangestellten Max Haukmann und dessen Ehefrau Maria Rosine, geb. Seydel, geboren. Nach Besuch der Grundschule und des humanistischen Gymnasiums in Esslingen am Neckar legte ich dort im März 1960 die Reifeprüfung ab. Im November des gleichen Jahres begann ich das Medizinstudium an der Universität Tübingen und bestand dort nach zwei Semestern das Vorphysikum. Nach weiteren drei Semestern an der Universität München legte ich dort das Physikum ab und studierte danach ein Semester in Wien. Seit dem Sommersemester 1964 bin ich Student der Universität Freiburg im Breisgau.

- -

